

Acta
OTO-LARYNGOLOGICA

S U P P L E M E N T U M 212

**EXPERIMENTELLE
UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
BILDUNGSSTÄTTEN UND DEN
STOFFAUSTAUSCH DER PERILYMPHE**

VON

L. SCHREINER

ACTA OTO-LARYNGOLOGICA • KARLAVÄGEN 41, STOCKHOLM Ö

1962

*Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenkranke
der Universität München. Direktor: Prof. Dr. A. Herrmann*

ACTA OTO-LARYNGOLOGICA

SUPPLEMENTUM 212

EXPERIMENTELLE
UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
BILDUNGSSTÄTTEN UND DEN
STOFFAUSTAUSCH DER PERILYMPHE

VON

L. SCHREINER

UPPSALA 1966

Habilitationsschrift der Med. Fakultät der Universität München 1962

Literatur wurde bis 1965 berücksichtigt

Tag der Habilitation: 15. II. 63.

Diese Arbeit wurde durchgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie mit Kernforschungsmitteln des Landes Bayern und mit Mitteln der Gesellschaft der Freunde und Förderer der Universität München



GEDRUCKT IN SCHWEDEN

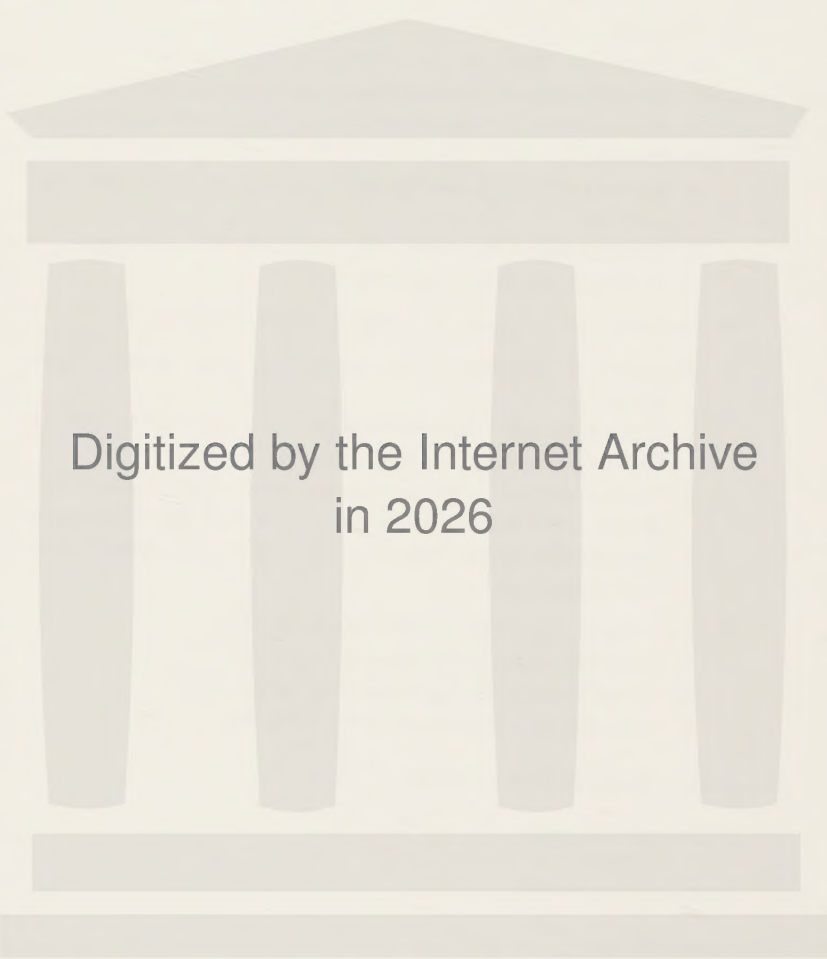
Almqvist & Wiksells

BOKTRYCKERI AKTIEBOLAG

UPPSALA 1966

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung und Problemstellung	5
II. Eigene Untersuchungen	7
A. Methoden	7
1. Operative Methode zur Perilymphgewinnung	8
2. Beobachtungen bei der Perilymphgewinnung	8
3. Gefriermethode zur Gewinnung von Peri- und Endolymph	10
4. Methode zur Endolymphgewinnung am lebenden Kaninchen	11
5. Methode zum Verschuß des Aquaeductus cochleae	12
6. Methode zur Liquorgewinnung	12
B. Quantitative Messung der gewonnenen Perilymphe	12
C. Chemisch-analytische Untersuchungen und deren Ergebnisse	12
1. Vergleichende Untersuchungen über den Elektrolytgehalt in Perilymphe, Liquor und Blutserum	12
2. Vergleichende Untersuchungen über den Aminosäuregehalt der Perilymphe, des Liquors und des Blutserums	13
3. Vergleichende Elektrophoresen von Perilymphe, Liquor und Blutserum	14
D. Untersuchungen mit radioaktiven Stoffen	14
1. Versuche mit radioaktivem Phosphor	15
2. Versuche mit Jod ¹³¹ -markierten Albuminen	21
3. Autoradiographische Untersuchungen	25
III. Besprechung der Ergebnisse	33
IV. Schlußfolgerungen	46
V. Zusammenfassung	52
VI. Conclusions	50
VII. Summary	51
VIII. Literaturverzeichnis und Anhang	52



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Für die Physiologie des Hörens und die Pathogenese vieler Innenohrkrankungen ist die Kenntnis über die Herkunft, den Stoffwechsel und die Strömung der Labyrinthflüssigkeiten von großer Bedeutung. Unsere Forschungsergebnisse darüber beruhen zum größten Teil auf dem Studium der Histologie und der pathologischen Anatomie, die in letzter Zeit besonders durch elektronenoptische und elektrophysiologische Untersuchungen, sowie durch klinische Arbeiten ergänzt worden sind.

Die Entdeckung von v. BÉKÉSY (1951, 1953), daß die Endolymphe der Scala media ein positives Gleichspannungspotential gegenüber der Perilymphe aufweist, regte auch die Erforschung der chemischen Verhältnisse im Innenohr und insbesondere in den Labyrinthflüssigkeiten an. Diese Untersuchungen stießen anfangs auf große Schwierigkeiten, da zunächst Methoden gefunden werden mußten, die zur Gewinnung der Labyrinthflüssigkeiten führten. Außerdem war es schwer, diese winzigen Mengen (Perilymphe pro Innenohr ca. 8–12 μ l, Endolymphe ca. 2 μ l) genau zu messen und chemisch zu untersuchen.

Neben rein chemisch analytischen Versuchen hat das Studium der Sekretions- und Resorptionsstellen der Labyrinthflüssigkeiten viele Forscher beschäftigt, ohne daß eine endgültige Klärung erzielt werden konnte.

Bis vor einigen Jahren unterschied man beim Labyrinthliquor (KOBRAK 1949) zwei Flüssigkeiten: Die Peri- und die Endolymphe. Seit 1960 spricht man noch von einer Cortilymphe (ENGSTRÖM), und es wird damit jene Flüssigkeit bezeichnet, die den inneren und äußeren Tunnel, den NUEL'schen Raum und die Spalten zwischen den Haar- und Stützzellen durchströmt. Die Cortilymphe hat extrazellulären Charakter (RAUCH 1960) und ihre Herkunft aus der Perilymphe oder den HENSEN'schen Zellen (ENGSTRÖM 1960) wird diskutiert.

Bezüglich der Entstehung der Endolymphe nimmt man seit den Untersuchungen von SHAMBAUGH (1907, 1909), GUILD (1927), RÜEDI (1951) und den neueren autoradiographischen Versuchen von MEYER ZUM GOTTESBERGE (1960), PLESTER (1960) und KOBURG und PLESTER (1961) allgemein an, daß sie von der Stria vascularis produziert wird, während für die Resorption die Zellen des Sulcus spiralis externus (FIANDT und SAXÉN 1937), des Sacculus endolymphaticus (GUILD 1927, ALTMANN und WALTNER 1947, LUNDQUIST 1964) und der Stria vascularis (RÜEDI 1951, RAUCH 1962) verantwortlich gemacht werden.

Die Herkunft der Perilymphe ist noch völlig ungeklärt. Nach der bisherigen Meinung stammt die Perilymphe entweder aus dem Liquor cerebro-

spinalis (KARLEFORS 1923, KARBOWSKI 1930, MEURMANN 1931, QUIX und v. EGMONT 1933, PERLMANN und LINDSAY 1939, GISSELSON 1949, KLEY 1951, SVANE-KNUDSEN 1958, JAKO und Mitarb. 1959) oder aus der Endolymphe (WEBER-LIEL 1879, QUIX und v. EGMONT 1933, WITTMACK 1936, ALDRED, HALLPIKE und LEDOUX 1940, ALTMANN und WALTNER 1950, MYGIND 1952 und SVANE-KNUDSEN 1958) oder aus beiden Flüssigkeiten. Nachdem der Aquaeductus cochleae anatomisch ein Gebilde darstellt, das den Perilymphraum mit dem Subarachnoidalraum verbindet, hatte die Liquorgenese lange Zeit die meisten Anhänger. Gegen ein einfaches Liquordialysat der Perilymphe sprechen aber der unterschiedliche Eiweißgehalt dieser beiden Flüssigkeiten, sowie die elektrophoretischen Untersuchungen von CHEVANCE, GALLI und JEANMAIRE (1960). Auch die Zusammensetzung der Aminosäuren der Perilymphe verhält sich anders als die im Liquor (ANTONINI, CASORATI und CRIFO 1956/1957, CHEVANCE, GALLI und JEANMAIRE 1960, KLUYSKENS und RABAËY 1960). Diese Autoren, sowie GRAF und PORETTI (1951), welche erstmals Versuche mit radioaktiven Stoffen durchführten, waren der Anschauung, daß die Perilymphe auch ein Blutfiltrat darstellen könnte.

In unserer Klinik stehen Untersuchungen über die Ursprungsquellen und den Stoffwechsel der Perilymphe seit langem im Mittelpunkt des Interesses. Durch chemisch-analytische und vor allem durch Experimente mit radioaktiven Stoffen haben wir versucht, zur Klärung der erwähnten Probleme beizutragen.

Wir stellten uns folgende Fragen: Ist die Perilymphe chemisch mit dem Liquor cerebro-spinalis identisch? Ist der Aquaeductus cochleae für Flüssigkeiten durchgängig und, wenn ja, ist die Durchgängigkeit abhängig von der Molekülgröße? Ist die Reißner'sche Membran durchlässig für Ionen und größere Moleküle? Lassen sich Anhaltspunkte gewinnen, ob eine Produktion der Perilymphe im Perilymphraum selbst möglich ist und welche anatomischen Stellen kommen gegebenenfalls in Betracht? Welche Stoffwechselbeziehungen bestehen zwischen den einzelnen Labyrinthflüssigkeiten?

II. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Zur Klärung unserer Probleme waren vor allem technische und methodische Fragen zu lösen. Sie stellen auch den Mittelpunkt unserer Darlegungen dar. Die methodischen Probleme bestanden vor allem darin, die physiologischen Verhältnisse im Innenohr, wie z.B. die ausbalancierten Druckverhältnisse, nicht zu stören. Eine weitere Schwierigkeit war, die Perilymphe ohne Blutbeimengungen zu gewinnen. Beide Probleme wurden durch die Gefriertechnik überwunden. Schließlich standen wir bei allen unseren Versuchen stets im Kampf mit dem Faktor „kleine Zahl“, so daß selbst bei exakter Durchführung der Meßmethoden Fehlerquellen von $\pm 5\%$ nicht auszuschließen waren. Unter Berücksichtigung all dieser Schwierigkeiten war es deshalb erforderlich, die jeweilige Versuchsreihe an einer größeren Zahl von Tieren durchzuführen.

Unsere Untersuchungen wurden an 169 Kaninchen vorgenommen. Zur Auswahl dieser Tierspezies entschlossen wir uns deshalb, da die anatomischen Verhältnisse am Innenohr des Kaninchens neben dem des Affens dem Innenohr des Menschen am nächsten kommen. Außerdem gelingt es beim Kaninchen leicht, eine größere Menge Liquor zu gewinnen.

Die Tiere hatten ein Durchschnittsgewicht von ca. 4 kg. Es wurde darauf geachtet, daß die Kaninchen ohrgesund waren. Stellte sich bei den Experimenten ein krankhafter Befund am Ohr heraus, so wurde der Versuch nicht gewertet. Vor der Operation blieben die Tiere 12 Stunden nüchtern. Zur Narkose verwendeten wir 20%ige Urethanlösung, wovon wir pro kg Körpergewicht 7–8 ccm in die Ohrmuschelvene in zwei Raten langsam injizierten. Die Applikation der ersten Rate wurde beendet, sobald der PREYER'sche Ohrmuschelreflex vermindert war. Etwa 5 Minuten später erfolgte die Injektion der zweiten Rate. Die verabreichte Menge des Urethans war von Tier zu Tier verschieden. Die Narkose hielt gut über die durchschnittliche Operationsdauer von 3 Stunden an. Nach Beendigung des Versuches erhielten die Tiere, soweit sie noch gebraucht wurden, Depot-Penicillin, und, wenn nötig, Flüssigkeitsersatzmittel.

A) METHODEN

Für die Gewinnung der Labyrinthflüssigkeiten boten sich uns in der Literatur die Methode von ALDRED, HALLPIKE und LEDOUX (1940), GRAF und PORETTI (1950), sowie die Gefriertechnik nach RAUCH (1960) an. Diese Methoden wurden von den Autoren meist an Meerschweinchen ausgeführt und liessen sich nicht ohne weiteres auf das Kaninchen anwenden. Für

die von RAUCH (1960) beschriebene Kältepräparation fehlte uns zudem noch die erforderliche aufwendige Ausstattung eines Kälteraumes. Aus diesem Grunde haben wir eigene Methoden entwickelt.

1. Operative Methode zur Perilymphgewinnung

Nach Enthaarung und Desinfektion im Operationsgebiet erfolgte in Urethannarkose nach lokaler Injektion von Novocain der Hautschnitt, der vom Vorderrand des Ohrmuschelansatzes senkrecht bis zur Mitte des absteigenden Unterkieferastes reichte. Nach Unterbindung der oberflächlichen Gefäße im Parotisbereich wurde der Wundsperrerr eingesetzt und die Muskulatur sowie die Parotis freipräpariert. Der N. facialis wurde durchschnitten und die Bulla von der darüberliegenden Fascie freigelegt. Das weitere operative Vorgehen geschah unter der Operationslupe, bzw. dem Operationsmikroskop. Mit Hilfe eines Bohrers wurde die Bulla eröffnet und weite Teile des Bullaknochens wurden nach dorsal und ventral abgetragen. Dann wurde der knöcherne Teil des Gehörganges, der über die Gehörknöchelchen ragt, abgefräst. Ebenso wurde der Knochen zum Processus stylo-mastoideus zu entfernt, so daß man einen guten Einblick auf die knöcherne Schnecke, die Gehörknöchelchen, das ovale und runde Fenster gewinnen konnte (Abb. 1).

Bei all diesen Eingriffen wurden die Gehörknöchelchen geschont und es wurde sorgfältig darauf geachtet, daß der nicht luxierte Stapes in seiner Nische blieb. Ein grosses Gefäß, das quer durch die Bulla läuft, mußte unterbunden werden. Der N. facialis wurde aus seinem Kanal extrahiert. Hierbei kam es oft aus den Begleitgefäßen zu Blutungen. Auch Liquorfluß konnte mitunter beobachtet werden. Beim weiteren Vorgehen wurden mit einem kleinen Bohrer zwei kleine Öffnungen in die knöcherne Schneckenwand gebohrt. Der Knochen wurde hierbei abgeschliffen und es gelang, ohne jede Blutung den Perilymphraum zu eröffnen. Die zweite Öffnung im Perilymphraum war zum Druckausgleich gedacht (Abb. 2). Der Endolymphschlauch leuchtete aus der Tiefe grau durch und bei der Entnahme der Perilymphe war darauf zu achten, daß er nicht verletzt wurde. Entscheidend war, daß die entnommene Perilymphe keine Blutbeimengungen enthielt. Wir haben zu diesem Zweck verschiedene Perilymphproben entweder auf dem Objektträger ausgestrichen und nach Erythrozyten gesucht oder wir wandten die Benzidinprobe an. Die Untersuchungen zeigten nur in den seltensten Fällen Blutbeimengungen. Bei Versuchen, die wir mit Jod-131-markierten Stoffen durchgeführt haben, wurde zuerst die Aktivität im Auffangglas gemessen und anschliessend untersucht, ob in der Perilymphe Blutbeimengungen enthalten waren. War dies der Fall, wurde der Versuch nicht gewertet.

2. Beobachtungen bei der Perilymphgewinnung

Wurde die Perilymphe mit einer Glaskapillare aus dem Perilymphraum beim narkotisierten Tier entnommen, so war dieser Raum zunächst leer.

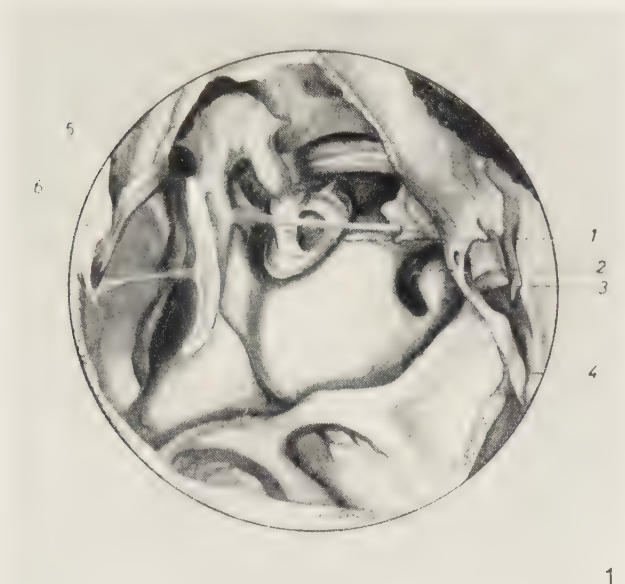


Abb. 1. Mittelohr des Kaninchens (Operationssitus, Stadium I). 1: Ovale Fenster mit Steigbügel. 2: Rundes Fenster mit Membran. 3: Stumpf des N. facialis. 4: Proz. styloides. 5: Knöcherne Gehörgangswand. 6: Trommelfellrest.



Abb. 2. Mittelohr des Kaninchens (Operationssitus, Stadium II). Das runde Fenster ist erweitert, die Fenstermembran ist zurückgeklappt, so daß die Einmündungsstelle des Aquaeductus cochleae (Pfeil) zu sehen ist.

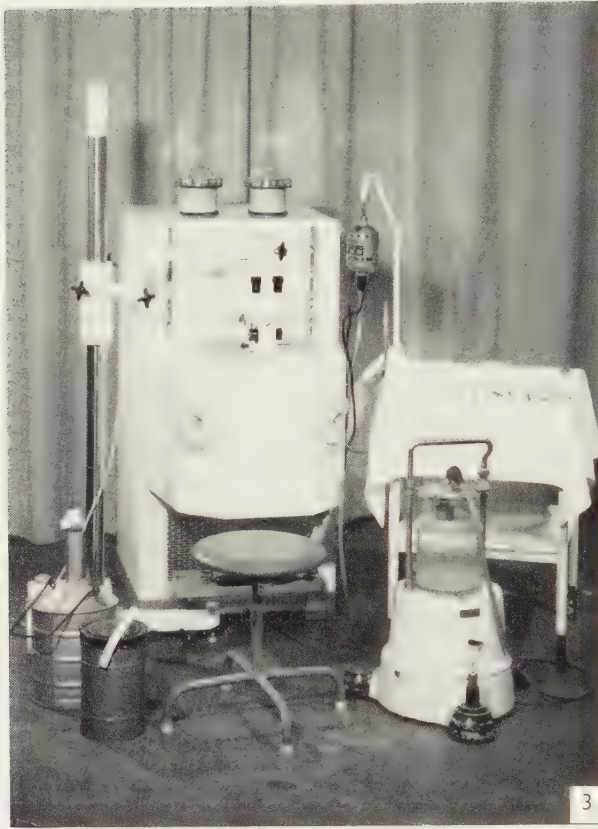


ABB. 3. Operationskryostat zur Mikropräparation des Innenohres und Gewinnung der Labyrinthflüssigkeiten (Beschreibung im Text).

Nach etwa 2–3 Minuten sah man, wie sich in der Skala von der Basalwindung her erneut Perilymphe nachbildete. Auch diese nachgelaufene Flüssigkeit haben wir gesammelt und, sobald diese entnommen war, konnte man das Nachlaufen noch zwei- bis dreimal beobachten. Wir haben die zuerst gewonnene Perilymphe als Fraktion I und die nachgelaufene Flüssigkeit als Fraktion II bezeichnet.

3. Gefriermethode zur Gewinnung von Peri- und Endolympe

In Urethannarkose frästen wir nach Eröffnung der Bulla die knöchernen Schneckenwand und die Brücke zwischen rundem und ovalem Fenster bis auf eine dünne Schicht ab und dekapitierten anschließend das Kaninchen. Der Kopf fiel in flüssigen Stickstoff, bzw. in flüssiges Isopentan. Nach 2–3 Minuten wurde der Kaninchenkopf aus dem Kühlgefäß herausgenommen und in eine für diese Zwecke nach eigenen Angaben modifizierte Tiefkühltruhe (Kryostat, Hersteller: Fa. Dittes, Heidelberg) gebracht (Abb.3). Das Kühlgerät, das mit Durchgriffen für die Manipulation und mit einem Fenster aus Thermopensescheiben versehen ist, ermöglichte die weitere Frei-

legung des Innenohres bei einer Temperatur von minus 18–22 Grad. Der Kryostat ist innen beleuchtet und mit einem kleinen, höhenregulierbaren Operationstisch ausgestattet. Die Instrumente wurden schon vorher in das Kühlgerät gebracht, ebenso das Handstück der Bohrmaschine samt Anschluß nach außen. Die Präparation des Innenohres geschah unter dem Zeiss-schen Operationsmikroskop, wie wir es üblicherweise auch in der Klinik bei mikrochirurgischen Eingriffen am Ohr verwenden. Der Operationsabstand zwischen der untersten Thermopenplatte und Objekt betrug etwa 10 cm. Unter 40-facher Vergrößerung wurde die restliche Knochen-schicht der Labyrinthkapsel ganz abgefräst. Perilymphe und der Endolymphschlauch lagen im gefrorenen Zustand vor. Der Endolymphschlauch erschien etwas weißlich glänzend. Es gelang zunächst, die gefrorene Perilymphe von Schneckenwindung zu Schneckenwindung zu entfernen und zu sammeln. Der Endolymphschlauch wurde meist in Form kleiner Bruchstücke gewonnen. Das kleine Sammelgefäß mußte zur Vermeidung von Verdunstung vorgekühlt sein. Die größte Schwierigkeit bei dieser Präparation bestand manchmal darin, daß es nicht gelang, wegen der beengten Raumverhältnisse bestimmte Mikromanipulationen vorzunehmen. Wir haben dann diese Eingriffe kurzfristig außerhalb des Kryostaten durchgeführt und, wenn nötig, den Kaninchenkopf später wieder neu eingefroren.

4. Methodik zur Endolymphgewinnung am lebenden Kaninchen

Bei verschiedenen Versuchsanordnungen mit radioaktiven Stoffen konnten wir die Endolymph nicht nach unserer Gefriermethode gewinnen, da das Tier am Leben bleiben sollte. Außerdem hätte die Gefahr bestanden, daß die Membran des Endolymphschlauches, die außen mit radioaktiver Perilymphe in Berührung stand, ebenfalls radioaktiv war. Diese Aktivität wäre also mitgemessen worden.

Für diese Versuche legten wir wieder den Perilymphraum durch 2 Bohr-löcher in der Schnecke frei und punktierten den Endolymphschlauch durch eine hauchdünne Kapillare an. Selbstverständlich mußte darauf geachtet werden, daß das Operationsfeld blutfrei und die Perilymphe von der Oberfläche her abgesaugt war. Bei radioaktiven Versuchen haben wir den Perilymphraum vorher mit Aqua destillata oder mit physiologischer Kochsalz-lösung gespült und diese Spülflüssigkeit vom Rande des Bohrloches wieder abgesaugt. Durch die Kapillarität gelang die Aspiration von Endolymph. Der Endolymphschlauch war oft von unterschiedlicher Elastizität und setzte der Berührung mit der Glaskapillare mitunter großen Widerstand entgegen. Die gewonnene Menge Endolymph war nur sehr gering und analytisch kaum meßbar. Sie reichte jedoch aus, um eine Aussage über eine meßbare Radioaktivität machen zu können.

5. Methodik zum Verschuß des *Aquaeductus cochleae*

Nach Freilegung der knöchernen Schnecke nach der oben beschriebenen Methode war hier noch ein zusätzliches Abfräsen des nach dorsal reichen-

den Knochens um das runde Fenster notwendig. Auch nach der Tiefe zu wurde der Raum um das runde Fenster erweitert. Die Membran im runden Fenster wurde zurückgeschoben, bis hinten unten am Boden der Basalwindung die Einmündung des Aquaeductus cochleae und etwas oberhalb davon der Abgang eines Bogenganges aufleuchtete (Abb. 2). Unter dem Operationsmikroskop sah man deutlich eine Flüssigkeitsströmung, die vom Subarachnoidalraum zur Schnecke ging. Hatte man vorher die Schnecke von Perilymphe freigesaugt, so füllte sich diese nach Freilegung des Aquaeductus cochleae schnell wieder. Die nachströmende Flüssigkeit war wasserklar. Mit Hilfe von warmem, flüssigen Bienenwachs oder von Zahngips gelang es an der Einmündungsstelle den Aquaeductus cochleae zu plombieren. Voraussetzung war, daß man die Skala absaugte und mit einem Wattedriller die Umgebung der Einmündungsstelle für Bruchteile von Sekunden trocken bekam. Andernfalls hielten der Gips oder das Bienenwachs nicht. Nach Verschluß des Aquaeductus cochleae sah man kaum Einstromen von Flüssigkeit in den Perilymphraum mehr. Überraschenderweise konnte man nach ca. 3 Minuten feststellen, daß sich der Perilymphraum wieder gefüllt hatte; diesmal aber fast gleichzeitig in allen Abschnitten der Schnecke und nicht, wie früher, von den Basalwindungen her.

6. Methodik zur Liquorgewinnung

Nach Enthaarung der Nackenpartien erfolgte die Präparation und Freilegung der Membrana atlanto-occipitalis. Die darüber liegende Muskulatur wurde durch Einsetzen eines Wundsperrers in der Medianlinie auseinandergedrängt und mit Hilfe einer kleinen Rekordspritze gelang es leicht, durch suboccipitale Punktionen 0,5–0,75 ccm Liquor ohne Blutbeimengung zu gewinnen.

B) QUANTITATIVE MESSUNG DER GEWONNENEN PERILYMPHE

Die Messung der minimalen Mengen an Labyrinthflüssigkeiten bedeutete lange ein schwieriges Problem. Nach vielen Versuchen mit Mikropipetten aller Art sowie Gewichtsbestimmungen mit Ultrawaagen hatte sich herausgestellt, daß BECKMANN-Mikropipetten und Hamilton-Spritzen die beste Reproduzierbarkeit aufzeigten und eine Messung der Flüssigkeiten bis zu einer Menge von 1 μ l erlaubten. Die Genauigkeit der quantitativ gewonnenen Flüssigkeitsproben wurde bei vielen Vorversuchen noch durch Wiegen dieser Proben mit der Ultrawaage (METTELER U 6) kontrolliert. Die Fehlerquelle lag bei maximal 1,5%. Auf sehr rasche Arbeit mußte Wert gelegt werden, da die Verdunstung bei diesen kleinen Mengen eine große Rolle spielte.

C) CHEMISCH-ANALYTISCHE UNTERSUCHUNGEN UND DEREN ERGEBNISSE

1. Vergleichende Untersuchungen über den Elektrolytgehalt in Perilymphe, Liquor und Blutserum

Die Perilymphe gewannen wir mit unserer Gefriermethodik. Insgesamt wurde die Labyrinthflüssigkeit von 24 Kaninchen gewonnen und die Ge-

TABELLE 1. Vergleich der Elektrolyte beim Serum, Liquor und der Perilymphe (Mittelwerte).

	Serum	Liquor	Perilymphe
Natrium (meq/l)	143	152	146
Kalium (meq/l)	5,4	6,0	4,9
Kalzium (meq/l)	3,2	3,2	3,5

samtmenge mittels Mikropipetten gemessen. Es standen uns 425 μ l Perilymphe zur Verfügung. Mittels Mikromethoden wurde die Perilymphe mit dem DU-Flammenphotometer der Firma BECKMANN untersucht. Ebenso wurden auch der Liquor und das Blutserum auf ihren Gehalt an Elektrolyten analysiert.

Die Ergebnisse (Mittelwerte) sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Unsere Untersuchungen am Kaninchen stimmen mit den Ergebnissen von SMITH, LOWRY und WU (1954), sowie CITRON, EXLEY und HALLPIKE (1956), die diese beim Meerschweinchen und RAUCH (1958) beim Menschen fanden, überein.

Elektrolytuntersuchungen der Endolympe ergaben sehr unterschiedliche Ergebnisse, so daß keine Signifikanz berechnet werden konnte.

2. Vergleichende Untersuchungen über den Aminosäuregehalt der Perilymphe, des Liquors und des Blutserums

Die Untersuchungen wurden an 22 Kaninchen mit einem Durchschnittsgewicht von 4 kg durchgeführt. Nach unseren operativen Methoden gewannen wir die Perilymphe in 2 Fraktionen. Insgesamt standen 0,32 μ l der Fraktion I zur Verfügung. Fraktion II der Perilymphe, Liquor und Blutserum waren im Überschuß vorhanden. Sämtliche Flüssigkeiten wurden mit dem 4-fachen Volumen von absolutem Alkohol enteweißt und der alkoholische Überschuß bei Zimmertemperatur zur Trockne eingedampft. Danach entfernten wir die Lipide mit kleinen Mengen von Aether. Das Ausgangsvolumen der Präparate wurde durch Lösen in destilliertem Wasser wieder hergestellt. Je 140 μ l wurden absteigend 66 Stunden nach Butanol-eisessigwasser 4 : 1 : 1 auf S & S-Papier 2040 b M chromatographiert. Alle Chromatogramme (auf einem Bogen) trockneten wir bei Zimmertemperatur und entwickelten sie 36 Stunden mit Ninhydrin.

Die Tabelle 2 gibt die Ergebnisse wieder.

In der Tabelle findet sich als auffälligster Befund, daß die nachgelaufene Perilymphe (Fraktion II) gegenüber den anderen untersuchten Flüssigkeiten nur die Hälfte an freien Aminosäuren aufweist. Vergleicht man die Fraktionen I und II der Perilymphe mit den Befunden von Liquor und Blutserum, so ergibt sich, daß für die einzelnen Aminosäuren in der Perilymphe sehr unterschiedliche Werte gegenüber dem Serum und dem Liquor auftreten.

TABELLE 2. *Prozentuale Verteilung der Aminosäuren in Perilymphe (Fraktion I und II), Liquor und Serum.*

Angaben in % und Integratormengeneinheiten (E)

Substanz	Perilymphe				Liquor		Serum	
	Fraktion I		Fraktion II		E	%	E	%
	E	%	E	%				
Histiden	25	3,57	18	4,73	22	2,78	33	4,71
Lysin	47	6,71	28	7,37	48	6,08	74	10,57
Arginin	38	5,43	23	6,05	60	7,59	24	3,43
Nicht ident. Substanzen	144	20,57	96	25,26	166	21,01	75	10,71
Asparagin-Glyzin	209	29,85	100	26,32	215	27,21	257	36,71
Glutaminsäure Theorin	100	14,28	55	14,46	143	18,10	95	13,57
Alanin	43	20,43	60	15,78	140	17,72	145	20,71
Gesamtgehalt in Integratormengeneinheiten	706		380		794		703	

3. Vergleichende Elektrophoresen von Perilymphe, Liquor und Blutserum

Die Versuche wurden an 18 Kaninchen durchgeführt. Die Serumelektrophoresen wurden nach GRASSMAN und HANNIG (1958) angestellt. Der Eiweißgehalt des Serums konnte refraktometrisch ermittelt werden. Den Liquor gewannen wir durch Zisternenpunktion, während die Perilymphe teils nach der Gefriermethodik, teils nach der operativen Methode gewonnen wurde. Erythrozytenhaltiger Liquor oder bluthaltige Perilymphe wurden nicht mituntersucht. Den Gesamteiweißwert im Liquor und in der Perilymphe haben wir nach FÜHR (1955) gemessen. Zur Elektrophorese wurde der Liquor und die Perilymphe nach MIES (1953) eingengt und auf Acetatstreifen aufgetragen.

Es zeigten sich hierbei folgende Ergebnisse (Tabelle 3):

Vergleicht man die Ergebnisse der einzelnen Körperflüssigkeiten, so fällt zunächst der 4–5-fache höhere Eiweißwert der Perilymphe gegenüber dem Liquor auf. Der Unterschied hinsichtlich der Zusammensetzung der Globuline ist nur gering.

D) UNTERSUCHUNGEN MIT RADIOAKTIVEN STOFFEN

Für unsere Untersuchungen über die Herkunft, die Bildungsstätten und den Stoffwechsel der Perilymphe hielten wir die Verwendung von radioaktiven Isotopen am besten geeignet. Es ist bekannt, daß durch diese Stoffe die physiologische Zusammensetzung der Labyrinthflüssigkeiten, ihre Konzentration an Elektrolyten und andere biologische Faktoren, die bei diesen Untersuchungen berücksichtigt werden müssen, nicht gestört werden. Außerdem haben sie den wesentlichen Vorteil gegenüber anderen Untersuchungsmethoden, daß auch kleinste Mengen gemessen werden können.

TABELLE 3. Eiweißfraktionen des Serums, des Liquors und der Perilymphe.

<i>Serum</i>	Albumin	56,8 rel. %
	α_1 -Globulin	6,7
	α_2 -Globulin	6,6
	β -Globulin	16,1
	γ -Globulin	14,8
Der Gesamteiweißwert des Serums betrug 5,7 g %		
<i>Liquor</i>	Albumin	53,0 rel. %
	α_1 -Globulin	4,5
	α_2 -Globulin	6,4
	β -Globulin	24,9
	γ -Globulin	11,1
Der Gesamteiweißwert des Liquors betrug 21 mg %		
<i>Perilymphe</i>	Albumin	58,4 rel. %
	α_1 -Globulin	8,3
	β -Globulin	21,3
	γ -Globulin	11,5
Der Gesamteiweißwert der Perilymphe betrug 96 mg %		

Wir verwendeten Phosphor-32 in wässriger Lösung, dann verschieden markierte Aminosäuren, sowie Jod-131 markiertes Humanalbumin und kanincheneigenes Albumin und schließlich radioaktivmarkierte Zellgranula.

Phosphor-32 findet für Traceruntersuchungen am meisten Verwendung, da er eine günstige Halbwertszeit von etwa 14 Tagen hat und seine Strahlung sich gut messen läßt. Der Nachteil ist, daß anorganisches Phosphat in relativ hohem Maße organisch gebunden wird, so daß beim Nachweis der Radioaktivität nicht ohne weiteres zu entscheiden ist, ob diese Aktivität durch Membranpassage oder durch die Mitwirkung von Zellen in den zu untersuchenden Raum gelangt ist.

In einer zweiten Versuchsreihe ergänzten wir deshalb unsere Untersuchungen mit Jod-131-markierten Albuminen, die sicher extrazellulär bleiben.

In einer anderen Versuchsreihe führten wir autoradiographische Untersuchungen mit tritiummarkierten Aminosäuren durch. Hierdurch gelang es, den Eiweißstoffwechsel in den Zellen und Gewebsarten der Schnecke und des Vorhofbogengangapparates in Abhängigkeit von der Zeit zu untersuchen. Wir hofften auf diese Weise auch Hinweise über den Antransport der Aminosäuren zu den Geweben des Innenohres erhalten zu können.

1. Versuche mit radioaktivem Phosphor

Wir verwendeten Phosphat-32 als Orthophosphat in verdünnter physiologischer Kochsalzlösung, sterilisiert und trägerfrei. Die spezifische Aktivität betrug 1 mc/g Phosphat. Die Substanz wurde intravenös, suboccipital und in den Perilymphraum selbst appliziert.

Die *Messung* der Aktivität beim Phosphor-32 erfolgte im Geiger-Müller-Zählrohr mit Endglimmerfenster (FRIESEKE und HOEPFNER FH 781, Fensterdicke 3,61 mg/ccm) bei einer Spannung von 750 Volt ohne Untersetzung mit Berger-Zeit-Stoppuhr.

Die Voraussetzung für diese Art der Messung war, daß die zu messenden Körperflüssigkeiten mit einer gleichen Schichtdicke und in stets der gleichen räumlichen Anordnung auf das Meßschälchen aufgetragen wurden, so daß für die Messung stets gleiche Bedingungen gegeben waren. Die gewonnenen Flüssigkeiten auf dem Meßschälchen wurden eingedampft. Als Bezugs- menge wurde 25 μ l der jeweils zu untersuchenden Körperflüssigkeit zu- grunde gelegt. Da pro Innenohr nur 8–12 μ l Perilymphe zu gewinnen waren, wurde die Aktivität dieser Menge in Beziehung gesetzt zu der Radioaktivität von 25 μ l anderer Körperflüssigkeiten, wie Liquor und Blut. Der statistische Umrechnungsfehler lag zwischen 4 und 5 %. Bei der Messung selbst erfolgte zunächst die Bestimmung des Leerwertes an einem nicht aktiven Meßschäl- chen, dann wurde die Messung des aktiven Meßschälchens vorgenommen und hiervon der Leerwert wieder abgezogen. Unsere Werte geben also die absolute Impulszahlen bezogen auf eine Meßzeit von 10 Minuten wieder. Vielfach wurden die Proben in Anbetracht ihrer kleinen Mengen und der geringen Aktivität mehrmals gemessen. Zum Teil erfolgte eine Messung über 1 Stunde und das Ergebnis wurde in Beziehung gebracht zum 10- Minutenwert. Da die Meßbedingungen identisch gehalten wurden, erübrig- ten sich Korrekturen des Meßergebnisses bezüglich Raumwinkel, Reflexion an der Unterlage, Eigenabsorption und Eigenstreuung, Absorption in der Wand bzw. im Fenster des Zählrohres und in der Luftschicht zwischen Quelle und Zählrohr.

Bei den Traceruntersuchungen wurden folgende Versuchsanordnungen getroffen:

a) Bei 32 Kaninchen injizierten wir ca. 400 μ C-Phosphor-32, gelöst in 2 ccm Kochsalzlösung, in die Ohrlöffelvele. Nach 10 Minuten wurde, soweit die Versuchsdauer länger als 10 Minuten betrug, Blut aus der Vene des anderen Ohrloffels als Bezugswert entnommen und mit einer Mikropipette 25 μ l auf ein Meßschälchen aufgetragen. Die Tiere wurden in Abständen von 5 Minuten bis zu 168 Stunden nach der Injektion durch Evipan ge- tötet. Anschließend eröffneten wir das Herz, damit das Tier ausblutete. Gleiche Mengen von Blut aus dem Herzen (25 μ l) wurden auf ein Meßschäl- chen aufgetragen und gleichmäßig verteilt. Anschließend punktierten wir die Zisterna magna, gewannen den Liquor und trugen eine gleiche Menge auf ein Meßschälchen auf. Die Perilymphe wurde nach einer der zwei ange- gebenen Methoden gewonnen, mit Mikropipetten gemessen und auf das Meßschälchen aufgetragen und verrührt. Durchschnittlich gewannen wir 12 μ l. Bei der Messung der Radioaktivität wurde diese kleine Menge in Beziehung gesetzt zu den 25 μ l der anderen Körperflüssigkeiten und dann entsprechend umgerechnet.

b) Bei 12 Kaninchen injizierten wir das radioaktiv markierte Phosphar

suboccipital. Wir legten zu diesem Zweck die Membrana atlanto-occipitalis operativ frei und punktierten den subarachnoidalen Liquorraum. Es wurde zunächst etwa 0,5 ccm Liquor abgesaugt, die Nadel stecken gelassen; anschließend applizierten wir ohne Druck ca. 100 μ C-Phosphor-32, das in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst war. Die Radioaktivität wurde 5 Minuten bis 24 Stunden danach in der Perilymphe, im Liquor und im Blut gemessen.

Bei den Versuchen zeigte sich, daß die innerhalb eines gleichen Zeitraums durchgeführten Untersuchungen größere Schwankungen hinsichtlich der Konzentration des Phosphors im Liquor und in der Perilymphe aufwiesen, obwohl stets gleiche Mengen an aktiver Substanz appliziert wurden. Es spielen offenbar physiologische Faktoren hinsichtlich der Ausscheidung, der peripheren Durchblutung und der Permeabilität der Bluthirnschranke eine große Rolle. Wir konnten deshalb keinen der meßbaren Aktivitätswerte als Bezugssystem nehmen und haben zur Veranschaulichung der Verteilungsverhältnisse nur die Quotienten aus der Aktivität des gleichen Blutvolumens zur Aktivität des entsprechenden Perilymphvolumens herangezogen. Die im Diagramm angeführten Werte sind Mittelwerte (Abb. 4 und 5).

Die ersten meßbaren Aktivitäten in der Perilymphe waren 5 Minuten nach der Injektion nachzuweisen. Der Quotient aus Blut und Perilymphe liegt bei 63, d. h., daß zu diesem Zeitpunkt das Blut noch 60mal aktiver ist als die Perilymphe. Nach 15 Minuten ist der Quotient auf 15 abgesunken. In der Folgezeit fällt die Aktivität weiter ab und nach 1 Stunde ist die Aktivität nur noch etwa 2mal höher als in der Perilymphe, während sie nach 24 Stunden ausgeglichen ist. Der Quotient des Liquorwertes zum Perilymphwert fällt ebenfalls konstant ab. Nach 15 Minuten sind die Aktivitäten praktisch ausgeglichen und nach 1 Stunde ist die Aktivität in der Perilymphe höher als die entsprechende Aktivität im Liquor.

Zur Klärung der entscheidenden Frage, ob das aktive Phosphat über das Kapillarsystem oder auf dem Diffusionsweg über den Hirnliquor in die Perilymphe gelangt, injizierten wir Phosphor-32 nach der von uns angegebenen Methode suboccipital. Hierbei ergab sich, daß nach 5 Minuten über 30 % der Phosphoraktivität des Liquors in der Perilymphe vorhanden war. Nach 15 Minuten betrug die Aktivität in der Perilymphe über 50 % der Aktivität des Liquors; sehr bald kam es dann zu einem Aktivitätsausgleich, der bis zu 24 Stunden keinerlei Verschiebung mehr zeigte.

Die Tabelle 4 gibt eine Übersicht der Aktivitätsverteilung nach intravenöser und suboccipitaler Applikation von Phosphor-32 (Mittelwert von je 5 Versuchen) wieder.

Aus dem Vergleich der suboccipitalen und intravenösen Applikation von Phosphor-32 ergibt sich, daß in Anbetracht der hohen Radioaktivität in der Perilymphe nach kurzen Zeitabständen der Phosphor sowohl über dem Blutweg als auch über den Aquaeductus cochleae in den Perilymphraum gelangen kann.

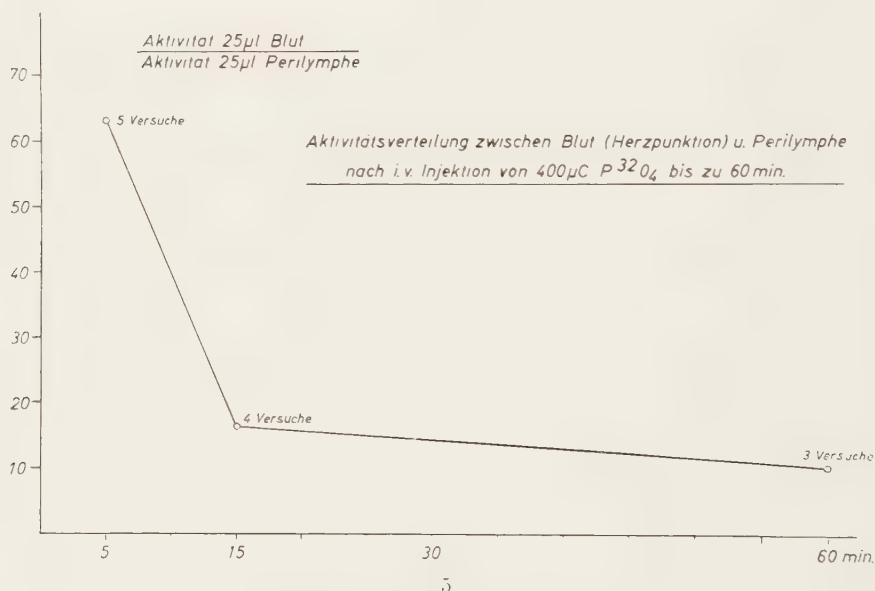
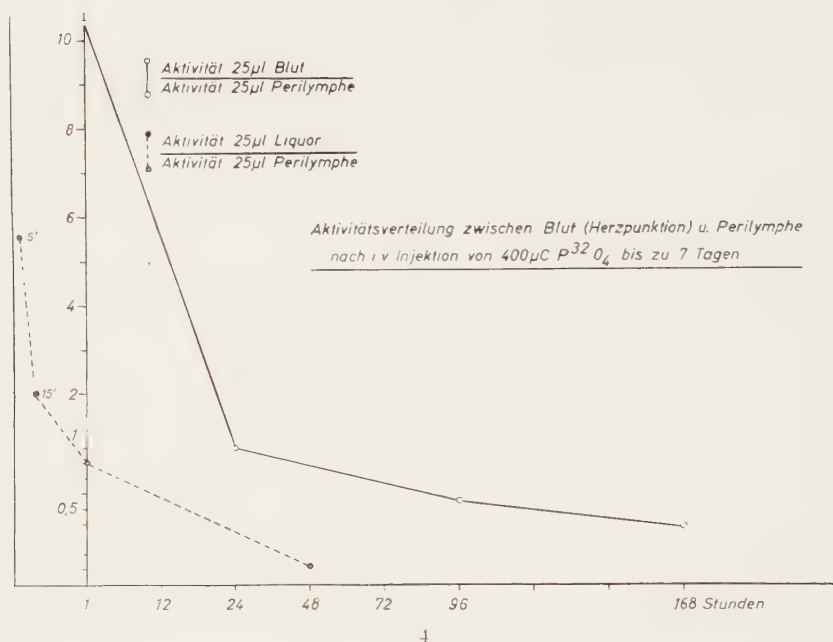


Abb. 4 und 5. Aktivitätsverteilung zwischen Blut, Liquor und Perilymphe nach intravenöser Applikation von $400\mu\text{C } \text{P}^{32}\text{O}_4$ von 5 Minuten bis zu 7 Tagen (Mittelwerte).

c) Bei 17 Kaninchen applizierten wir ca. $100\mu\text{C}$ -Phosphor-32 in einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung durch das operativ eröffnete ovale Fenster ohne Druck in das Vestibulum der einen Seite. Auf sorgfältigste Blutstillung vor der Applikation wurde geachtet und der umliegende Knochen mit Bienenwachs verkittet. Zur besseren Applikation wurde ein

TABELLE 4. Vergleich der Aktivitätsverteilung nach intravenöser und suboccipitaler Applikation von Phosphor-32 (Mittelwerte), gemessen in Impulsen pro 25 μ l Körperflüssigkeit.

Meßzeit: 10 Minuten

Applikation	Zeit	Blut	Liquor	Perilymphe
Intravenös	5 Min.	7 222	399	112
	15 Min.	7 165	577	445
	60 Min.	1 951	1 014	1 135
Suboccipital	5 Min.	257	105 896	26 733
	15 Min.	588	75 547	39 865
	60 Min.	514	40 681	41 142

Schacht aus Bienenwachs in der rechten Bulla angelegt, der bis ins ovale Fenster reichte und durch eine Wachsplombe unmittelbar nach der Applikation von oben verschlossen wurde. 1 Stunde nach Verabreichung der aktiven Substanz töteten wir die Tiere und gewannen neben Blut, Blutserum und Liquor die Perilymphe aus dem Ohr der anderen Seite.

Außer Phosphor-32 applizierten wir bei dieser Versuchsanordnung auch noch die Aminosäure Glyzin in C^{14} -markierter Form, sowie Jod 131 -markiertes Humanalbumin und Phosphor markierte Mitochondrien.

Es zeigten sich hierbei folgende Ergebnisse: Nach einer Versuchsdauer von 10 Minuten waren bereits geringe Radioaktivitäten im Blut nachweisbar. Bei den Phosphor-Versuchen fanden sich frühestens nach 1 Stunde die ersten Aktivitäten im Liquor. Die Radioaktivität lag hier größenordnungsmäßig so hoch wie die Radioaktivität im Blutserum. Bei der Messung der Radioaktivität in der Perilymphe des anderen Ohres ergab sich, daß von den 17 Phosphorversuchen 14 mal die Aktivität hier höher war als die Aktivität der entsprechenden Menge des Liquors und nur in 3 Fällen lagen die Aktivitäten im Liquorvolumen höher als in der Perilymphe. Die hier gefundenen Ergebnisse wiesen aber eine beträchtliche Streubreite auf, sodaß erst eine größere Versuchsreihe noch Aufschluß über diese Befunde geben könnte.

Glyzin in C^{14} -markierter Form direkt in den Perilymphraum gebracht, ließ sich in der Perilymphe des anderen Ohres noch in höherer Konzentration als im Hirnliquor bei der Messung am Methandurchflußzähler nachweisen.

Bei der Applikation von phosphormarkierten Mitochondrien in den Perilymphraum fanden sich in der Perilymphe des anderen Ohres nach 1 Stunde Aktivitätswerte, die unter der Aktivität des Hirnliquors lagen. Wahrscheinlich ging diese Aktivität auf beigemengtes Phosphat zurück, das in anorganisch freier Form vorlag.

Wurden Jod 131 -markierte Albumine in den Perilymphraum gebracht, so

TABELLE 5. Vergleich der Aktivitätskonzentration von Phosphor-32 in der Perilymphe bei verschlossenem und offenem Aquaeductus cochleae bei suboccipitaler Applikation.

(Impulse/25 μ l Körperflüssigkeit. Meßzeit: 10 Minuten Mittelwerte)

Versuchs-Nr.	Versuchs-Dauer	Liquor	Perilymphe li. (Aq. c. verschlossen)	Perilymphe re. (Aq. c. offen)
1	5 Min.	30 782	738	11 781
2	5 Min.	41 361	397	9 476
3	5 Min.	37 981	401	10 512
4	5 Min.	32 671	483	8 693

Die Zahlen geben die Impulse pro 10 Minuten Meßzeit bezogen auf 25 μ l Körperflüssigkeit wieder.

war nach 1 Stunde noch keine Radioaktivität in der Perilymphe des anderen Ohres nachzuweisen, jedoch fand sich im Liquor eine Aktivität.

d) In 4 Versuchen plombierten wir den Aquaeductus cochleae der einen Seite und injizierten Phosphor-32 suboccipital. Nach ca. 5 Minuten töteten wir das Tier und entnahmen von der operierten Seite die inzwischen nachgeflossene Perilymphe und verglichen ihre Aktivität mit der gleichen Menge gewonnener Perilymphe der anderen bereits voroperierten Seite.

Die Tabelle 5 gibt die Ergebnisse wieder.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß 5 Minuten nach suboccipitaler Applikation von Phosphor-32 eine hohe Aktivität in der Perilymphe des nichtoperierten Ohres und eine niedrige Aktivität in der inzwischen nachgelaufenen Perilymphe auf der Seite mit plombiertem Aquaeductus cochleae zu finden ist. Auf welche Weise bei letzterer die Aktivität vom Subarachnoidalraum in die Perilymphe gelangte, ist nicht sicher zu klären: möglicherweise geschieht der Eintritt des Phosphats in den Perilymphraum entlang der perineuralen Lymphscheiden des inneren Gehörganges.

Bei der suboccipitalen Applikation von organisch gebundenem Phosphat an Mitochondrien war auch nach 1 Stunde praktisch keine Aktivität in einem der beiden Perilymphräume nachzuweisen.

e) Zur Untersuchung der Durchgängigkeit der Reißnerschen Membran applizierten wir Phosphor-32 in den Perilymphraum selbst und gewannen anschließend durch Punktion des Ductus cochlearis mit einer Glaskapillare etwas Endolympe. Vorher wurde die aktive Lösung im Perilymphraum wieder abgesaugt und letzterer mit Aqua destillata durchspült. Die kleine Menge Endolympe war quantitativ kaum meßbar, weshalb wir die Spitze der Glaskapillare in einem Meßschälchen zerdrückten, um die Aktivität bei entsprechend langer Meßdauer bestimmen und mit einer ebenfalls durch Glaskapillare gewonnenen Durchspülflüssigkeit aus dem Perilymphraum vergleichen zu können.

Bei der Auswertung der gewonnenen Befunde waren die Aktivitäten sehr gering. Es läßt sich lediglich aussagen, daß in der Endolympe eine höhere Konzentration vorhanden war als in der gleichgroßen Menge gemessener Spülflüssigkeit aus dem Perilymphraum.

Wurde Thymin in C^{14} -markierter Form in eben derselben Weise appliziert, so waren die gleichen Versuchsergebnisse wie bei der Applikation von Phosphor-32 zu erzielen. Die Reißnersche Membran ist offenbar durchgängig für Ionen und kleine Moleküle in der Größenordnung kleiner Aminosäuren.

2. Versuche mit Jod¹³¹-markierten Albuminen

In einer weiteren Versuchsreihe führten wir in praktisch denselben Versuchsanordnungen wie bei den Phosphorversuchen unsere Untersuchungen mit Jod¹³¹-markiertem Albumin durch. Dieses Isotop bleibt sicher extrazellulär. Es hat außerdem eine wesentlich höhere Molekülgröße (etwa 60 000) als Phosphor-32, so daß sich in Verbindung mit den Phosphorversuchen auch Aussagen über Diffusionsvorgänge an den Membranen in Abhängigkeit von der Molekülgröße machen lassen.

Wir verwendeten Jod¹³¹-markiertes Humanserumalbumin und selbst hergestelltes kanincheneigenes markiertes Serumalbumin.

Die von der Industrie gelieferten jodmarkierten Humanalbuminfraktionen erwiesen sich bei der Prüfung in der Tiselius-Apparatur und auch papierelektrophoretisch als frei von sicher erkennbaren Unreinheiten. In der Immuno-Elektrophorese ergab die Testung einen Reinheitsgrad von 98 %.

Die Markierung der kanincheneigenen Albumine, die in dankenswerter Weise von Frau SCHEID-SEYDEL von der Nervenklinik der Universität München vorgenommen wurde, erfolgte nach der Methode von PRESSMANN und EISEN (1950). Die spezifische Aktivität unserer eigenen Präparation betrug 1–4 C/mg Albumin.

Die selbst hergestellten kanincheneigenen Jod¹³¹ markierten Albumine und die bezogenen jodmarkierten Human-Albuminlösungen wurden gegen mehrfach gewechselte physiologische Kochsalzlösungen 48 Stunden dialysiert und anschließend durch eine Ionen-Austauschsäule (Amberlite IRA 400 OH) geschickt. Zur Sterilisierung filtrierten wir die Jod¹³¹-Albuminlösung durch eine Glasfritte G 5/3 und es wurde die übliche bakteriologische Prüfung auf Keimfreiheit angestellt. Die endgültige Ausbeute bei den selbst hergestellten Albuminlösungen betrug etwa 70 % der Ausgangsalbuminlösung und 1,0–1,5 % der ursprünglichen Aktivität. Mit Hilfe der papierelektrophoretischen Trennung konnte nachgewiesen werden, daß weniger als 0,5 % in Form von freiem Jod vorliegen.

Nach der Methode von KUNKEL und WARD (1950) prüften wir das jodierte Albumin auf Reinheit der Präparation und auf Denaturierung. Die angelegten Trübungskurven mit Jod¹³¹-Albumin und nativem Albumin stimmten

TABELLE 6. Vergleich der Aktivitätskonzentration in Serum, Liquor und Perilymphe (Fraktion I und II) nach intravenöser Applikation von Jod¹³¹-markiertem Human-Albumin (Mittelwerte).

Zahl d. Fälle	Vers.- Dauer	Aktivität (= Impulszahl/25 μ l) in % des Ausgangswertes			
		Serum	Liquor	Perilymphe Fraktion I	Perilymphe Fraktion II
5	10 Min.	100	0,11	0,43	0,15
6	60 Min.	72	0,13	0,22	0,23
7	220 Min.	68	0,15	0,20	0,29
8	48 Std.	20	0,16	0,31	0,13

überein und die methodische Fehlerbreite von $\pm 3\%$ wurde nicht überschritten.

Die Messungen der Aktivitäten führten wir mit dem Strahlungsmeßgerät FH 90 — Szintillationszähler mit Bohrlochkristall FH 451 durch.

Folgende Versuche wurden vorgenommen:

a) 22 Kaninchen erhielten je 100 μ C Humanalbumin und 3 Kaninchen kanincheneigenes jodmarkiertes Albumin in die Ohrvene injiziert. Die Versuchsdauer betrug 10 Minuten bis 48 Stunden. Nach 10 Minuten wurde aus der Vene des anderen Ohres ein Tropfen Blut und Blut für die Serumgewinnung als Bezugswert abgenommen.

Zur Perilymphgewinnung präparierten wir am narkotisierten Tier das Innenohr nach der angegebenen Methode und entnahmen die beiden Fraktionen, die in je 1 Meßschälchen gegeben wurden. Anschließend punktierten wir die Zisterna magna zur Liquorgewinnung. Schließlich töteten wir das Tier und entnahmen aus dem Herzen Blut zur Direktmessung und Blut zur Serumgewinnung. Gleiche Mengen von den einzelnen Körperflüssigkeiten wurden jeweils in 1 Meßschälchen abpipettiert.

In der Tabelle 6 sind die Ergebnisse dieser Versuchsanordnung aufgezeichnet.

Die Aktivität ist diesmal ausgedrückt in Quotienten aus Impulszahlen pro 25 μ l untersuchte Körperflüssigkeit, bezogen auf den 10 Minuten Ausgangswert des Serums.

Eine Aktivität war frühestens nach 10 Minuten in der Perilymphe nachweisbar. Die Aktivität des Liquors lag zu diesem Zeitpunkt noch wesentlich unter der Aktivität der Fraktion I der Perilymphe, während die Aktivitätskonzentration in der Fraktion II nur etwas höher war als die Konzentration in der gleichen Menge Liquor. Nach 60 Minuten verringerte sich der Abstand zwischen der Konzentration im Liquor und in der Perilymphe. Die Aktivität in der Perilymphe war nur noch doppelt so groß wie im Liquor, jedoch war die Konzentration in der nachgeflossenen Perilymphe (Fraktion II) höher als in der Fraktion I. Nach 2 Stunden war das Ergebnis

TABELLE 7. Vergleich der Aktivitätskonzentration in Serum, Liquor und Perilymphe (Fraktion I und II) nach Applikation von kanincheneigenen Albuminen (Mittelwerte).

Zahl d. Fälle	Vers.-Dauer	Aktivität (= Impulszahl/mg-Gesamteiweiß) in % des Ausgangswertes			
		Serum	Liquor	Perilymphe Fraktion I	Perilymphe Fraktion II
1	10 Min.	100	3,7	30,5	8,4
1	60 Min.	—	7,7	25,9	19,5
1	120 Min.	92	14,9	70,0	—

noch deutlicher. 48 Stunden nach Applikation von markiertem Albumin war die Aktivität im Serum nur noch 20 % des Ausgangswertes und die Perilymphkonzentration in Fraktion I war wieder am höchsten.

Um den Einwand zu entkräften, daß das körperfremde Humanalbumin die Ergebnisse beeinträchtigt, führten wir dieselben Versuche mit kanincheneigenem jodmarkierten Albumin durch. Bei der Auswertung dieser 3 Versuche haben wir gleichzeitig das Gesamteiweiß im Serum, Liquor und in beiden Perilymphfraktionen bestimmt.

In der Tabelle 7 sind unsere Versuche mit kanincheneigenem jodmarkierten Albumin wiedergegeben.

Die Radioaktivität wurde diesmal ausgedrückt im Quotienten aus der Impulszahl zur Gesamteiweißmenge der jeweiligen Körperflüssigkeit und in Beziehung gesetzt zu dem als 100 festgelegten Ausgangswert des Serums. Wie die Tabelle zeigt, bestätigen diese Versuche sehr deutlich die schon mit Jod¹³¹-markiertem Humanalbumin gefundenen Ergebnisse, so daß wir

TABELLE 8. Vergleich der Aktivitätskonzentration in Serum, Liquor und Perilymphe (Fraktion I und II) nach suboccipitaler Applikation von Jod¹³¹-markierten Humanalbuminen und kanincheneigenen Albuminen (Mittelwerte).

		Aktivität (– Impulszahl/25 µl) in % des Ausgangswertes				
Zahl d. Fälle	Vers.- Dauer	Serum	Liquor	Perilymphe Fraktion I	Perilymphe Fraktion II	
Kaninchen- Albumin	3	10 Min.	—	100	44,7	50,0
		10 Min.	—	100	17,3	—
	2	72 Std.	100	7,0	20,5	10,9
	2	92 Std.	100	3,9	55,0	17,4

TABELLE 9. *Aktivitätskonzentration nach intravenöser und suboccipitaler Injektion von Jod¹³¹-markiertem Albumin bei verschlossenem Aquaeductus cochleae der linken Seite (Mittelwerte).*

		Aktivität (= Impulszahl/25 μ l) in % des Ausgangswertes			
Zahl d. Fälle	Vers.- Dauer	Serum	Liquor	Perilymphe links	Perilymphe rechts
a) Suboccipitale Applikation					
4	2-10 Min.	Nieder	100	0,5	50
b) Intravenöse Applikation					
3	10 Min.	100	0,12	0,21	0,32

auf weitere Versuchsreihen bei den ohnehin schwer zu markierenden kanincheneigenen Albuminen verzichten konnten.

b) Bei 6 Kaninchen applizierten wir nach vorheriger Entnahme von 0,5 ccm Liquor ca. 100 μ C Jod¹³¹-markiertes Humanalbumin und einmal jod-markiertes kanincheneigenes Albumin, welches in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst war, suboccipital. Die Versuche erstreckten sich über einen Zeitraum von 10 Minuten bis 92 Stunden.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 8 niedergelegt.

Wie die Tabelle zeigt, war 10 Minuten nach suboccipitaler Applikation über 44 % der Aktivität des Liquors bereits in der Fraktion I der Perilymphe nachweisbar, während die Fraktion II der etwas später gewonnenen Perilymphe sogar eine Konzentration von über 50 % der des Liquors aufwies. Nach einer Versuchsdauer von 72 Stunden und darüber war die Aktivitätskonzentration im Blut am größten, während die Aktivität im Liquor sehr niedrig erschien. Die Perilymphe der Fraktion I wies dagegen 20 % bis 50 % und die Perilymphe der Fraktion II 10 bis 15 % der Aktivität des Blutserums auf.

Markiertes kanincheneigenes Albumin gelangte offenbar nach suboccipitaler Applikation langsamer in den Perilymphraum. Nach 10 Minuten Versuchsdauer stand einem Liquorwert von 100 % eine Aktivitätskonzentration in der Perilymphe von 17,3 % gegenüber. Alle Werte sind wieder auf das Gesamteiweiß bezogen.

c) Bei 4 Kaninchen verschlossen wir nach der von uns angegebenen Methode den Aquaeductus cochleae linken und injizierten das Jod¹³¹-markierte Albumin suboccipital. Nach einer Versuchsdauer von 3-10 Minuten wurde die Perilymphe aus dem anderen Ohr, sowie die nachgelaufene Perilymphe des operierten Ohres gewonnen.

Bei 3 Kaninchen applizierten wir nach voroperiertem und verschlossenem Aquaeductus cochleae der einen Seite die aktive Substanz intravenös und gewannen dann die Perilymphe aus jedem Ohr.

Es zeigten sich die in Tabelle 9 angegebenen Ergebnisse.

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, fand sich nach kurzer Zeit in der Perilymphe des Ohres mit verschlossenem Aquaeductus cochleae eine um 100-fach geringere Aktivität als in der Perilymphe des anderen Ohres, wenn die aktive Substanz suboccipital appliziert wurde.

Dagegen war die Aktivitätskonzentration nach intravenöser Applikation in der Perilymphe des Ohres mit verschlossenem Aquaeductus cochleae nur um ein Drittel geringer als in der Perilymphe des Ohres mit offenem Aquaeductus cochleae. Auf dieses Ergebnis wird bei der Besprechung der Befunde noch besonders eingegangen.

d) In 3 Fällen applizierten wir zur Prüfung der Durchlässigkeit der Reißnerschen Membran das markierte Albumin in den Perilymphraum und gewannen anschließend nach der schon oben angegebenen Methode die Endolympe.

Es zeigt sich, daß 10 Minuten nach Applikation der Endolympe keine Aktivität nachzuweisen war. Auch bis zu einem Zeitraum von 1 Stunde war keine Aktivität in der Endolympe zu finden. Ebenso war auch keine Aktivität in der Perilymphe des anderen Ohres feststellbar.

3. Autoradiographische Untersuchungen¹

a) *Tierversuche.* 2 Kaninchen mit einem Gewicht von 2650 g und 2810 g, die 1 Tag nüchtern waren, erhielten je 70 mC tritiummarkiertes Phenylalanin in die Ohrgefäßvene injiziert. Die spezifische Aktivität betrug 8000 mC/mMol. Bei 2 Kaninchen mit einem Durchschnittsgewicht von 2720 g wurden je 90 mC tritiummarkiertes Lysin mit einer spezifischen Aktivität von 3000 mC/mMol. intravenös verabreicht. Mittels einer Überdosis Evipan töteten wir die Kaninchen je einer Versuchsreihe nach 30 und 60 Minuten. Anschließend wurden die Innenohren beiderseits entnommen und die Präparate in 10%igem Formalin fixiert, dem noch inaktives Phenylalanin, bzw. Lysin zugesetzt war. Die Präparate wurden in 5%iger Salpetersäure entkalkt.

b) *Technik der Autoradiographie.* Nach der üblichen Einbettung in Paraffin wurden 5–6 μ dicke Serienschnitte angefertigt, die teils zur Autoradiographie, teils zur Haematoxylin-Eosinfärbung verwendet wurden.

Die zur Autoradiographie bestimmten Schnitte wurden auf fettfreien Objektträgern mit Eiweißglyzerin aufgeklebt. Nach Entparaffinierung überzogen wir diese mit einer 2–3 μ dicken Gelatineschicht (0,5%ige Gelatine-lösung mit Zusatz von 0,05%igem Chromalaun).

Bei fast völliger Dunkelheit wurden die Präparate nach dem von PELC (1947), BOYD (1948) und MAURER (1959) angegebenen Stripping-Film-Verfahren mit einem Kodak-Autoradiographic-Film AR 10 (Emulsionsdicke 5 μ) bedeckt und an der Luft getrocknet. Die Präparate wurden 24 Stunden bis 3 Monate exponiert. Nach Abschluß der Exposition entwickelten wir die

¹ Herrn Dr. Dr. Hempel, Institut für med. Isotopenforschung in Köln (Leiter: Prof. W. Maurer) danken wir für die Herstellung der tritiummarkierten Aminosäuren.

Präparate unter konstanten Bedingungen und danach wurde ein Teil durch die Filmschicht hindurch mit Haemalaun gefärbt. Ein anderer Teil der Autoradiogramme blieb ungefärbt. Das Eindecken der Präparate erfolgte mit Glyzeringelatine.

c) *Ergebnisse der autoradiographischen Untersuchungen.* Die quantitative Auswertung der Autoradiogramme (ARG) geschah durch die Ermittlung der Silberkorndichte über den einzelnen Gewebs- und Zellarten.

Für die Silberkornzählung wurden schwachbelichtete ARG genommen, wobei wir die Silberkörner pro μ^2 Gewebsfläche in einem Ocularnetzmikrometer auszählten. Das Einzelquadrat entsprach bei Oelimmersion einer Fläche von $16 \mu^2$.

Durch die Verwendung von H^3 -markierten Aminosäuren konnte ein gutes Auflösungsvermögen erzielt werden, das nach MAURER (1959) unter 1μ liegt, so daß die Silberkörner (SK) den in den 5μ dicken Schnitten liegenden Zellen mittels starker Vergrößerung ohne Schwierigkeiten zugeordnet werden konnten. Bei SK-Zahlen unter 20 und weniger pro Zellquerschnitt genügte ein einmaliges Auszählen, bei größeren SK-Zahlen wurde zur Kontrolle nochmals ausgezählt.

Die in den Abbildungen und Tabellen für H^3 -Lysin und H^3 -Phenyl-Alanin wiedergegebenen Ergebnisse wurden für die jeweilige Substanz an ein und demselben ARG gewonnen. Die Ergebnisse sind deshalb miteinander vergleichbar. Bei unterschiedlichen Belichtungszeiten war die SK-Zahl der Belichtungszeit proportional. MAURER (1959) fand, daß die absoluten Werte der SK-Zahlen unter anderem abhängen von der jeweils applizierten Aminosäureaktivität und der Belichtungszeit der ARG. In unseren Versuchen sind deshalb nicht die absoluten SK-Zahlen, sondern lediglich die Zahlenverhältnisse derselben bei den einzelnen Zellarten vergleichbar.

Die autoradiographisch ermittelte SK-Dichte ist nach MAURER (1959) ein lineares Maß für die lokalspezifische Umsatzrate an der betreffenden Stelle des Schnittes. Die Schwärzungsverteilung im ARG gibt also die Größe der lokalen Aminosäureinkorporation wieder und durch Auszählung der SK pro μ^2 Gewebsfläche ist ein quantitativer Vergleich des Aminosäureeinbaues in den einzelnen Geweben und Zellen möglich.

In der Tabelle 10 sind die Auswertungsergebnisse bei der Schnecke nach intravenöser Injektion von H^3 -Phenyl-Alanin wiedergegeben. Die Versuchsdauer betrug 30 und 60 Minuten.

Die stärkste SK-Dichte weist die Ganglienzelle des Ganglion spirale cochleae auf, während die Schwärzungsverteilung in allen anderen Geweben in der Reihenfolge Tractus spiralis arteriosus et venosus, Stria vascularis, Ligamentum spirale, Reißnersche Membran, Corti'sches Organ und Membrana tectoria abnimmt.

Die Abbildung 6 zeigt eine Lupenvergrößerung eines überbelichteten Autoradiogramms (ARG) der Schnecke. Der unter der Fotoemulsion liegende Schnitt wurde nicht gefärbt. Man erkennt sehr deutlich die unterschiedliche Schwärzungsverteilung in den einzelnen Geweben der Cochlea.

TABELLE 10. *Mittlere Silberkorndichte über den Geweben und Zellen der Cochlea und relative Einbaurate nach intravenöser Applikation von H³-Phenyl-Alanin beim Kaninchen nach einer Versuchsdauer von 30 und 60 Minuten.*

Art des Gewebes oder der Zellen	Versuchsdauer 30 Minuten		Versuchsdauer 60 Minuten	
	Silberkörner pro μ^2	Relative Einbaurate (Ganglien- zellen = 100)	Silberkörner pro μ^2	Relative Einbaurate (Ganglien- zellen = 100)
Ganglienzellen des Ggl. spirale	2,38	100	2,38	100
Bindegewebszellen des Modiolus	1,89	79	1,89	79
Tractus arteriosus et venosus	2,28	96	2,28	96
Stria vascularis	1,76	67	1,76	67
Cortisches Organ (Haar- und Stützzellen)	0,91	33	0,98	42
Reißnersche Membran	0,76	32	0,90	36
Membrana tectoria	0,41	17	0,45	19
Tympanale Beleg-Zellen	0,74	31	0,91	37
Bindegewebszellen des Ligamentum spirale unterhalb und oberhalb der Reißnerschen Membran	1,38	58	1,38	58
Bindegewebszellen des Limbus spirale	1,24	52	1,24	52

TABELLE 11. *Mittlere Silberkorndichte über den Geweben und Zellen der Cochlea und relative Einbaurate nach intravenöser Applikation von H³-Phenyl-Alanin beim Kaninchen nach einer Versuchsdauer von 30 und 60 Minuten.*

Art des Gewebes oder der Zellen	Versuchsdauer 30 Minuten		Versuchsdauer 60 Minuten	
	Silberkörner pro μ^2	Relative Einbaurate (Ganglien- zellen = 100)	Silberkörner pro μ^2	Relative Einbaurate (Ganglien- zellen = 100)
Ganglienzellen des Ggl. vestibuli	2,86	100	2,86	100
Bindegewebszellen der Labyrinth- wandungen	1,66	58	1,70	59
Neuroepithel der Macula (Haar- und Stützzellenschicht)	1,40	49	1,59	56
Bogengängsepithel	1,21	43	1,36	48
Otolithenmembran	0,51	18	0 69	23
Neuroepithel der Crista ampullaris (Haar- und Stützzellenschicht)	1,37	48	1,63	56
Übergangszone und Planum semilunatum	1 71	61	1,77	61
Cupula	0,49	17	0,64	22

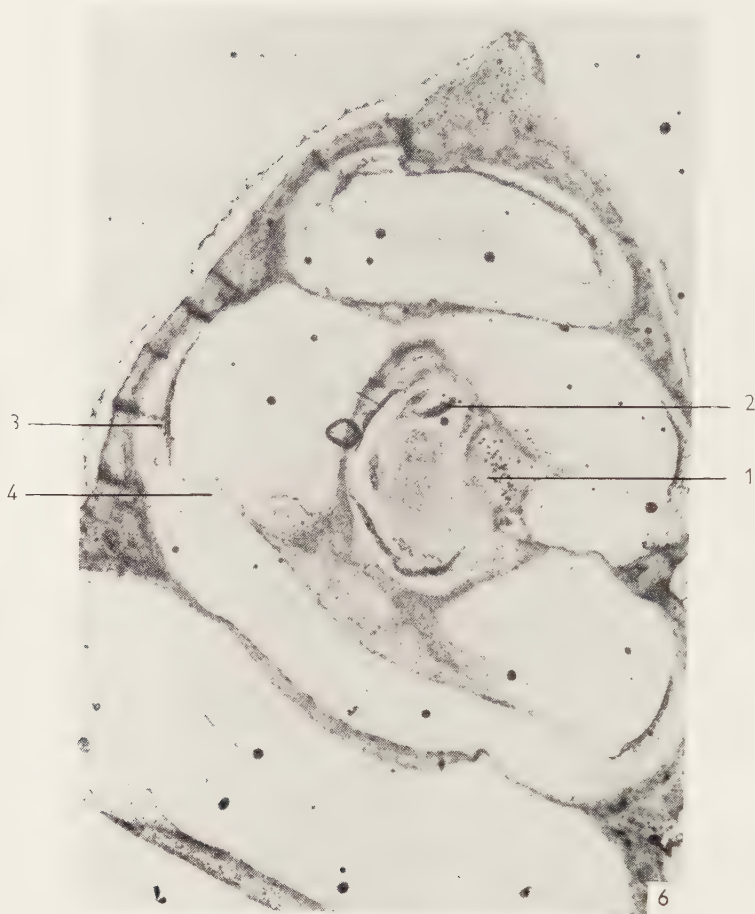


ABB. 6. Ungefärbtes Autoradiogramm der Cochlea des Kaninchens 1 Stunde nach Gabe von H^3 -Phenyl-Alanin (Stripping-Film, 30-fach). Die stärkste Schwärzung ist über den Ganglienzellen des Ggl. spirale cochleae (1); dann folgt der Tractus arteriosus et venosus (2), die Stria vascularis (3) und das Corti'sche Organ (4).

Wie unsere Tabelle zeigt, wiesen einige Gewebe der Cochlea schon nach 30 Minuten ihre endgültige Aminosäure-Inkorporation auf, während bei einigen anderen Geweben erst nach 60 Minuten der Höchstwert der Silberkorndichte erreicht ist. Diese Befunde decken sich hierin weitgehend mit denjenigen von MEYER ZUM GOTTESBERGE (1960), PLESTER (1960) und KOBURG und PLESTER (1962) am Meerschweinchen ermittelten.

Abbildung 7 gibt ein ARG des Ductus cochlearis wieder. Die Stria vascularis weist mit einer Silberkorndichte von $1,76 \text{ SK}/\mu^2$ einen ihrer Funktion entsprechenden starken Eiweißstoffwechsel auf.

Im Corti'schen Organ besteht kein Unterschied in der Silberkorndichte zwischen Haarzellen und Stützzellen. Die Basilarmembran ist praktisch frei von Silberkörnern, während die Membrana tectoria nur einen geringen

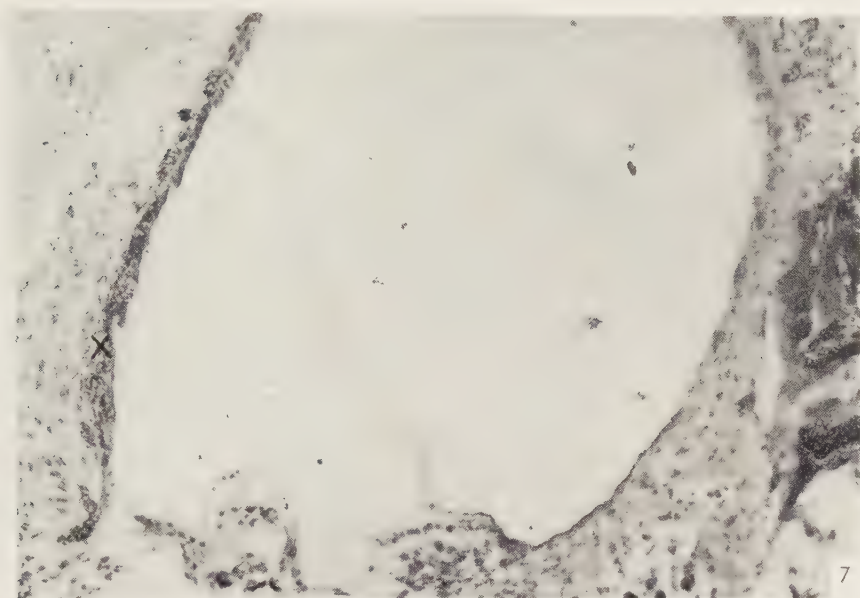


ABB. 7. Autoradiogramm des Ductus cochlearis beim Kaninchen 1 Stunde nach Applikation von H^3 -Phenyl-Alanin (Stripping-Film, 90-fach, gefärbt). Stärkste Silberkorndichte in der Stria vascularis (X).

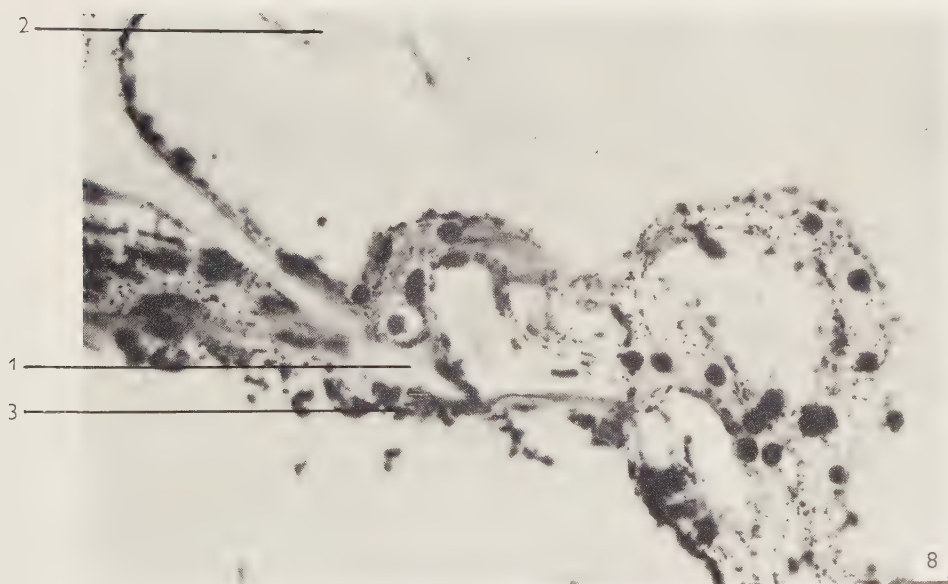


ABB. 8. Ungefärbtes Autoradiogramm des Corti'schen Organs (Stripping-Film, 300-fach). Die Basilarmembran (1) und die Membrana tectoria (2) zeigen nur eine ganz geringe Schwärzungsverteilung. Starke Schwärzung der tympanalen Belegschrift (3).

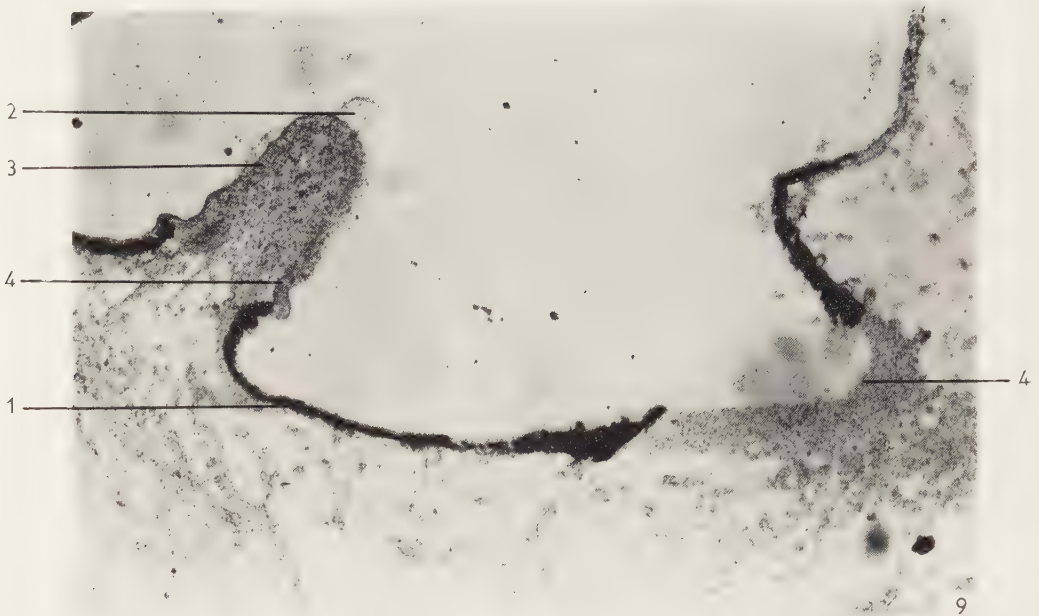


Abb. 9. Ungefärbtes Autoradiogramm der Crista ampullaris und der Macula nach Gabe von H^3 -Phenyl-Alanin (Stripping-Film, 30-fach). Die starke Schwärzung in der Ampullenwand ist durch eingelagertes Pigment bedingt (1). Geringe Silberkorndichte in der Cupula (2), stärkere im Neuroepithel der Crista (3) und der Macula (4), sowie in der Übergangszone (5).

Eiweißstoffwechsel aufweist. Auffallend hoch ist die starke Schwärzung der tympanalen Belegschicht mit 0,74 bzw. 0,91 SK/μ^2 . Wir werden bei dem Kapitel über die Besprechung der Befunde auf die hohe Silberkorndichte in diesem Gewabsabschnitt noch einmal zurückkommen.

BÉLANGER (1953) hat bei Versuchen mit S^{35} festgestellt, daß die Membrana tectoria keine Aminosäure einbaut. Dagegen fanden DOHLMAN und ORMEROD (1959) bei Gaben von S^{35} einen starken Einbau dieser Substanz in der Deckmembran des Corti'schen Organs.

In der Tabelle 11 sind die Auswertungsergebnisse nach Applikation von H^3 -Phenyl-Alanin beim Vorhofbogengangapparat wiedergegeben.

Die stärkste Silberkorndichte weisen die Ganglienzellen des Ganglion vestibuli auf. Dies entsprach auch den Befunden, wie wir sie bei den Ganglienzellen des Ganglion cochleae ermitteln konnten. Der Eiweißstoffwechsel im Ganglion vestibuli ist aber höher als im Ganglion cochleae.

Die Zellen der Übergangszone und des Planum semilunatum haben eine SK -Dichte von 1,74 SK/μ^2 ; es folgt dann das Gefäßbindegewebe der Labyrinthwandungen mit 1,66 SK/μ^2 . Die Auszählung der SK im Bereich des Planum semilunatum bereitete teilweise große Schwierigkeiten, weil das normalerweise hier vorhandene Pigment die SK mitunter überdeckte.

Geringer war die Umsatzrate der Aminosäuren in den Sinneszellen (1,4

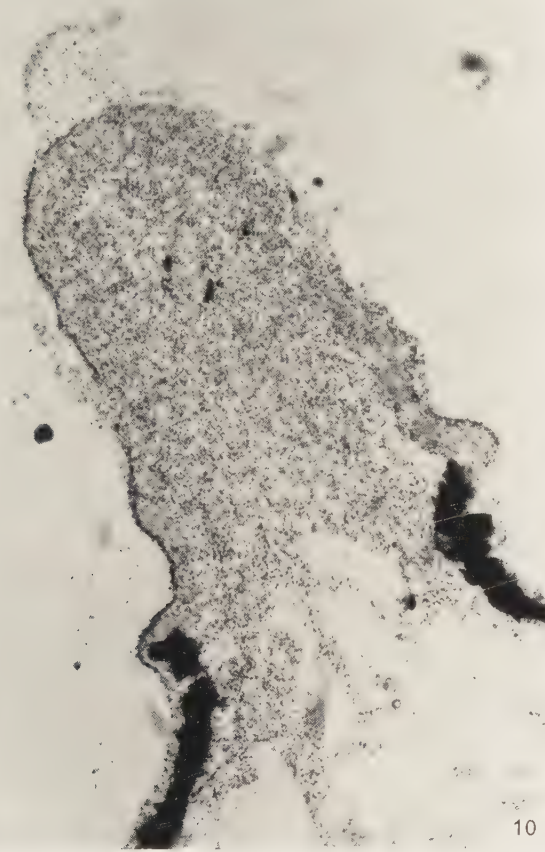


ABB. 10. Ungefärbtes Autoradiogramm der Crista ampullaris mit Cupula 1 Stunde nach Gaben von H^3 -Phenyl-Alanin (Stripping-Film, 90-fach). Die Cupula zeigt nur wenig Silberkörner.

SK/μ^2). Fast unbedeutend war der Eiweißstoffwechsel in der Otolithenmembran und der Cupula ($0,51 SK/\mu^2$ bzw. $0,49 SK/\mu^2$). Die Cupula war nur in wenigen histologischen Schnitten erhalten; es ist bekannt, daß ihre Darstellung technisch große Schwierigkeiten bereitet.

Abb. 9 gibt ein ungefärbtes ARG der Crista ampullaris und der gleichzeitig mitgetroffenen Macula wieder. Aus der Abbildung ist ersichtlich, daß die größte Schwärzung im Bereich der Übergangszone und im Apullenepithel festzustellen war. Diese Schwärzung geht aber zum Teil auf das hier eingelagerte Pigment zurück. Die SK-Dichte nimmt in der Reihenfolge Neuroepithel, Bogengangepithel, Otolithenmembran und Cupula ab.

Auffallend ist eine stärkere SK-Dichte im Bereich der Macula zwischen Neuroepithel und Otolithenmembran.

Vergleicht man anhand der Tabelle Nr. 11 die Werte des 30 Minutenver-

suches mit denjenigen des Versuches nach 60 Minuten, so ergibt sich, daß die SK-Dichte in den Ganglienzellen, dem Randepithel des Planum semilunatum und im Gefäßbindegewebe der Labyrinthwandungen nach 60 Minuten nicht zugenommen hat. Dagegen ist ein Ansteigen der SK-Dichte bei dem Neurepithel sowie beim Bogengangsepithel und der Otolithenmembran und Cupula festzustellen.

Abb. 10 zeigt ein ungefärbtes ARG der Crista ampullaris mit Cupula. Man erkennt sehr deutlich, wie gering die SK-Dichte im Bereich der Cupula gegenüber dem Neuroepithel ist.

Bei der zweiten Versuchsserie, bei der wir H^3 -Lysin injizierten, zeigte sich bei der Auswertung der ARG, daß die relative Einbaurate der Aminosäure sowohl im Bereich der Cochleae als auch im Vorhofbogengangapparat dieselben Werte erreichte, wie nach der Applikation von H^3 -Phenyl-Alanin. Wir verzichteten deshalb auf eine Wiedergabe der Tabellen. Der Befund, daß trotz Anwendung verschiedener Aminosäuren im wesentlichen dieselbe Schwärzungsverteilung festzustellen war, deckte sich mit Ergebnissen, wie sie MAURER u. Mitarb. (1959) auch bei anderen Organen aufweisen konnten.

III. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Bei der chemischen Analyse der Perilymphe hat sich ergeben, daß hinsichtlich des Elektrolytgehaltes nur ein geringer Unterschied in der Zusammensetzung gegenüber dem Liquor cerebros spinalis besteht. Der Natriumgehalt ist etwas geringer als im Liquor, dagegen ist der Kaliumgehalt ähnlich dem des Liquors, während das Kalzium in allen Körperflüssigkeiten in ziemlich gleicher Konzentration vorhanden ist. Unsere Befunde decken sich hierin mit den Ergebnissen, die von SMITH, LOWRY und WU (1954) und von CITRON und EXLEY (1957) in der Perilymphe von Meerschweinchen, sowie von RAUCH (1958) in menschlicher Perilymphe (aus Leichenfelsenbeinen gewonnen), gefunden wurden.

ANTONINI, CASORATI und CRISO (1957) untersuchten als erste die Konzentration der Aminosäure in der Perilymphe. CHEVANCE, GALLI und JEANMAIRE (1960) führten erstmals Immunoelektrophoresen durch und gewannen verschiedene Proteinfraktionen. Sie verglichen ihre Ergebnisse an der Perilymphe mit dem Verteilungsmuster des Liquors und es ergaben sich hierin Unterschiede.

In 22 eigenen Versuchen haben wir erstmals 2 Fraktionen der Perilymphe beim Kaninchen papierchromatographisch auf ihren Gehalt an Aminosäuren untersucht. Wie wir schon bei der Methode zur operativen Perilymphgewinnung hervorheben konnten, bildet sich nach Gewinnung der Perilymphe im Perilymphraum (Fraktion I) nach einigen Minuten wieder Perilymphe (Fraktion II) nach. Es war für uns von Interesse, ob diese Flüssigkeit (Fraktion II) dieselbe Zusammensetzung hat wie die Fraktion I. Wir konnten feststellen, daß die Fraktionen I und II hinsichtlich der freien Aminosäuren rein quantitativ in der Zusammensetzung gegenüber dem Liquor fast gleich ist. Hinsichtlich des absoluten Gehaltes zeigt sich, daß die Fraktion II nur die Hälfte an freien Aminosäuren aufweist wie die Fraktion I, Liquor und Blutserum. Darüber hinaus war festzustellen, daß für den Vergleich von Perilymphe Fraktion I und II gegenüber Liquor und Serum für die einzelnen isolierten Aminosäuren in unterschiedlicher Weise für Serum oder Liquor charakteristische Werte in der Perilymphe auftreten.

Unterschiede hinsichtlich der Zusammensetzung finden sich auch beim Vergleich des Eiweißgehaltes von Liquor und Perilymphe. In letzterer ist der Eiweißgehalt etwa 4- bis 5mal so hoch als im Liquor.

Es gelang uns, die Perilymphe auch elektrophoretisch aufzuspalten. Gegenüber den Ergebnissen am Serum und Liquor zeigten sich hier Unterschiede. Es fiel vor allem der höhere Albumingehalt auf.

Aus den bisherigen Befunden ergibt sich, daß sich die Perilymphe in ihrer chemischen Zusammensetzung von der des Liquors unterscheidet. Unsere Untersuchungen bestätigen damit die Befunde, die andere Autoren beim Meerschweinchen, bei der Katze und beim Menschen gefunden haben. Die papierchromatische Untersuchung zeigt darüber hinaus, daß die beiden Fraktionen I und II der Perilymphe nicht der gleichen Bildungsstätte entspringen können.

Zur Klärung der Frage, ob es sich bei der Perilymphe um eine selbständige Flüssigkeit handelt, haben wir uns dem Studium der Bildungsstätte und der Herkunft dieser Labyrinthflüssigkeit gewidmet. Bei Versuchen, die zu diesem Problem von anderen Autoren früher durchgeführt worden sind, stand vor allem die Frage der Durchgängigkeit des *Aquaeductus cochleae* im Mittelpunkt des Interesses.

WITTMACK (1936) sah in dem *Aquaeductus cochleae* noch eine offene Verbindung zum Schädelinneren und vertrat die Ansicht, daß die Perilymphe durch diesen offenen Kanal aus dem Perilymphraum in den Liquorraum abfließt. Er berichtete auch über echte Konkremente im *Aquaeductus cochleae* (Aq. c.), die zufällig bei der Untersuchung des Felsenbeines eines Patienten gefunden wurden, der zu Lebzeiten an Menière'schen Anfällen gelitten hatte. WITTMACK nahm deshalb an, daß eine Verlegung des Aq. c. zu Druckdifferenzen innerhalb des Labyrinthes führt.

Klinische Beobachtungen bei der Stapeschirurgie (MÜNDNICH 1959, UNGERECHT 1960) führten auch zu der Annahme, daß zumindest vereinzelt eine offene Verbindung zwischen dem Liquorraum und dem Perilymphraum beim Menschen vorhanden sein müsse. So konnten diese Autoren feststellen, daß sich bei Entfernung der Stapesfußplatte in seltenen Fällen plötzlich unter Druck bis zu mehreren 100 ccm Labyrinthliquor entleerte. Chemische Untersuchungen ergaben (SCHREINER 1962, unveröffentlicht), daß es sich hierbei um Liquor cerebrospinalis handelt. Ob dieser Liquor durch einen offenen Aq. c. oder durch perivasale oder perineurale Kanäle, etwa entlang des Facialiskanals im inneren Gehörgang (RAUCH 1962) in das Innenohr gelangt, bleibt solange ungeklärt, bis es nicht gelingt, die eine oder andere Annahme durch Nachweis einer Mißbildung histologisch zu sichern.

Bei experimentellen Versuchen über die Durchgängigkeit des Aq. c. am Tier injizierten die Autoren die verschiedensten Testflüssigkeiten, wie Gelatine und Tinte (WEBER-LIEL 1879, JAMPOLSKI 1925), Tusche (WITTMACK 1917, ARNWIG 1947), Kaliumferrocyanid, das sich mit Eisenammoniumnitrat blau färbt (GUILD 1927, MEUERMANN 1931, ALTMANN und WALTNER 1947, SVANE-KNUDSEN 1958), teils in den Subarachnoidalraum, teils subcutan oder direkt in die Blutbahn. Auch Methylenblau (OHMA 1939) und besonders Fluoreszin (VENTURA-GREGORINI 1935, GISSELSOHN 1949, GRAF und PORETTI 1950, KLEY 1951 und JAKO und Mitarb. 1959) wurde viel verwendet. Viele Autoren waren sich hierbei bewußt, daß sie durch die Injektion dieser Substanzen die physiologischen Verhältnisse im Innenohr und an den zu untersuchenden Flüssigkeiten störten; es ist deshalb nicht

verwunderlich, wenn die Ergebnisse von Autor zu Autor sehr variierten. Weitere Aufklärungen brachten über den Grund dieser unterschiedlichen Untersuchungsergebnisse schließlich histologische Untersuchungen von WALTNER und ALTMANN (1947). Sie fanden beim Kaninchen, bei menschlichen Föten und bei einigen Felsenbeinen vom erwachsenen Menschen eine kontinuierliche Membran, die die Öffnung des Aq. c. von der Scala tympani abtrennt. Der Aq. c. hat nach Messungen dieser Autoren beim Kaninchen eine durchschnittliche Länge von 2,5–3 mm und eine durchschnittliche Weite von 0,3–0,5 mm. Gegen die innere und äußere Öffnung wird der Kanal etwas weiter. Im Inneren ist der Kanal mit einem Netzwerk retikulären Bindegewebes ausgefüllt. Ein Vergleich des Aq. c. beim Kaninchen mit dem des Menschen zeigt, daß beim Kaninchen der Kanal sehr viel weiter als beim Menschen ist. Viel wichtiger aber ist noch das Verhältnis zwischen Länge und Weite. Beim Kaninchen ist es etwa 7 : 1 und beim Menschen 100 : 1. ALTMANN und WALTNER (1947/48) kamen zu dem Schluß, daß die von ihnen gefundene Trennmembran eine komplette Schranke zwischen dem Liquorraum und dem Perilymphraum darstellt.

LEMPERT und Mitarb. (1952) vermuten, daß nicht die WALTNER'sche Membran, sondern das enge Lumen des Aq. c. und die Schwellung des bindegewebigen Netzwerkes einen Flüssigkeitsaustausch verhindere. KLEY (1951) konnte an Felsenbeinen menschlicher Leichen nur mit hohem, plötzlich einsetzenden Druck (55 mm Hg) einen Flüssigkeitsdurchtritt durch den Aq. c. erzwingen. Aus diesem Grunde hätten entzündliche Labyrinthkrankungen auch nicht ohne weiteres eine Meningitis zur Folge und umgekehrt beteilige eine Meningitis praktisch nicht das Labyrinth. Derselbe Autor kommt aber auf Grund seiner Versuche beim Tier zu dem Ergebnis, daß der Aq. c. durchgängig ist und er hält auch einen gewissen Zufluß von Liquor entlang der perineuralen Lymphscheiden über dem inneren Gehörgang und den Modiolus für möglich. Auch eine Bildung von Perilymphe im Perilymphraum selbst oder aus der Endolymphe komme infrage.

HOMMERICH (1961) konnte feststellen, daß eine Druckübertragung auf das Labyrinth nicht durch eine Erhöhung des Liquordruckes, der sich auf den Perilymphraum fortsetzen könnte, geschehe, sondern nur dann eintrete, wenn der „trockene Hirndruck“ auf die lateralen Brückenzysternen zur Auswirkung kommt.

Zieht man in Betracht, daß der Aq. c. von Tier zu Tier der gleichen Gattung und noch mehr von Tier zu Tier einer anderen Gattung große Unterschiede aufweist, und berücksichtigt man, daß durch die meisten Versuche die physiologischen Verhältnisse mehr oder weniger gestört wurden, dann ist verständlich, daß als Voraussetzung jeder weiteren Untersuchung, die der Klärung des Problems über die Herkunft der Labyrinthflüssigkeiten dienen soll, diese Fehlerquellen nach Möglichkeit ausgeschaltet werden müssen. Aus diesen Gründen ist den Versuchen mit radioaktiven Stoffen eine besondere Bedeutung beizumessen. Die Radioisotope verhalten sich biologisch und chemisch wie die stabilen Nuklide desselben Elementes,

sind nicht körperfremd, stören nicht das osmotische Gleichgewicht und sind vor allem in kleinsten Mengen physikalisch nachweisbar.

GRAF und PORETTI (1950), sowie PORTMANN (1954) injizierten Phosphor-32 subkutan oder intraperitoneal und fanden, daß er später in der Perilymphe auftrat als im Kammerwasser oder im Liquor. GRAF und PORETTI (1950) führten diese geringe Radioaktivität auf die kleinere Austauschfläche zwischen Blut und Perilymphe einerseits und Blut und Liquor andererseits zurück. Bei Versuchen mit Natrium 24 erschien die aktive Substanz jedoch fast gleichzeitig in der Perilymphe und im Liquor. Die Autoren schlossen daraus, daß die Perilymphe ein Blutdialysat sein könnte.

RAUCH (1960) führte Untersuchungen mit radioaktiver $^{24}\text{NaCl}$ -Lösung beim Meerschweinchen durch und fand, daß 18 Stunden nach Applikation die Radioaktivität in den parenchymatösen Organen geringer war als in der Peri- und Endolympe.

Bei unseren Traceruntersuchungen mit radioaktiven Stoffen wollten wir anhand des Vergleiches der Konzentration in der Perilymphe mit derjenigen im Blut und Liquor feststellen, ob sich Rückschlüsse über den Weg des Antransportes der radioaktiven Substanzen zu den jeweiligen Körperflüssigkeiten gewinnen lassen. Insbesondere sollte dabei geprüft werden, in wieweit sich die Konzentrationen der Radioaktivität in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion ändern.

Im Falle der intravenösen Injektion von radioaktivem Phosphor läßt sich schon 5 Minuten später eine Radioaktivität in der Perilymphe nachweisen. Die Aktivität im Blut ist sehr hoch und fällt in der Folgezeit kontinuierlich ab. Es tritt allmählich ein Ausgleich der Aktivitäten zum Liquorraum und ein entsprechender Ausgleich mit der Perilymphe ein. Nach langen Zeiträumen ist die Aktivität in der Perilymphe fixiert. Entsprechende Ergebnisse finden sich auch bei Injektionen in den Liquorraum, wobei ein rascher Aktivitätsausgleich zu Perilymphe erfolgt. Der größte Teil der Liquoraktivität geht über den Kreislauf und das Ausscheidungssystem verloren. Nach 24 Stunden sind die Aktivitäten von Liquor und Perilymphe ausgeglichen.

Bei suboccipitaler Applikation ist der Aktivitätseintritt nur auf direktem Wege und nicht über das Kapillarsystem möglich. Ein Vergleich bei der suboccipitalen und intravenösen Applikation von Phosphor-32 ergibt fast die gleichen Konzentrationsverhältnisse. Es ist anzunehmen, daß niedermolekulare Substanzen die Perilymphe sowohl über den Blutweg als auch über den Liquorweg erreichen können. Für die Annahme, daß Phosphor-32 direkt vom Blut aus in den Perilymphraum eingeschleußt wird, spricht der Befund, daß 5 Minuten nach intravenöser Applikation nicht schon eine so hohe Aktivität von Phosphor in der Perilymphe nachzuweisen ist. Die Diffusion von aktivem Phosphor aus dem Blut über den Liquorraum in den Perilymphraum würde länger als 5 Minuten dauern.

Es ist hervorzuheben, daß selbst bei völlig gleicher Dosierung von radioaktivem Phosphor sich in Abhängigkeit von physiologischen Faktoren von

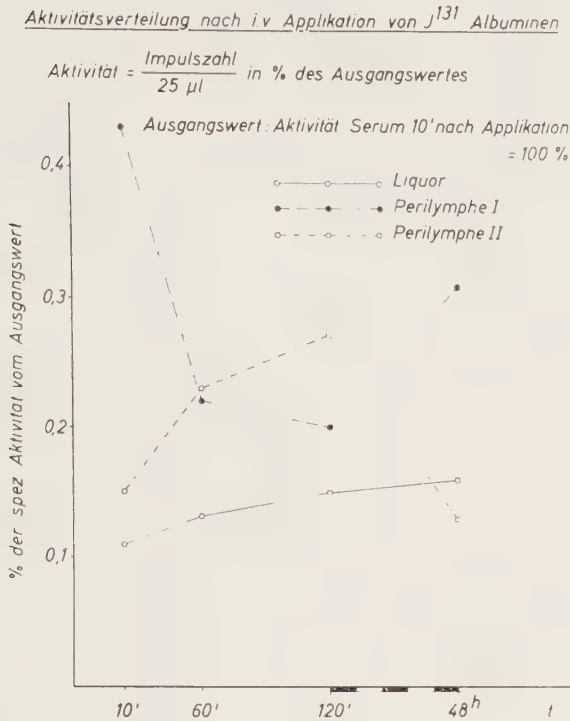


ABB. 11. Diagrammische Darstellung der Aktivitätskonzentrationen in Liquor und Perilymphe als Funktion der Zeit nach intravenöser Applikation von Jod 131 -markierten Albuminen (Mittelwerte).

Versuchstier zu Versuchstier individuelle Schwankungen hinsichtlich der Ausscheidung, der peripheren Durchblutung und damit des Abströmens in die Organe, sowie in der Permeabilität der Blutliquorschranke ergaben. Dazu kommt, daß das gesamte Blutvolumen eine geringe Austauschfläche mit dem Liquor besitzt und daß die Perilymphe entsprechend eine noch kleinere jonendurchgängige Membran zum Liquor aufweist. Es ist zu berücksichtigen, daß Phosphor-32 zum Teil organisch gebunden werden kann und damit der Diffusion entzogen wird. Es ist möglich, daß die geringere Aktivitätskonzentration in der Perilymphe nach 5 und 15 Minuten gegenüber dem Liquor auf diese Faktoren zurückzuführen ist.

Zur weiteren Klärung unserer Fragestellung haben wir Versuche mit einem extrazellulären Stoff, nämlich dem Jod-131 radioaktiv markiertem Albumin durchgeführt. Das verwendete Albumin hat eine Molekulargröße von ca. 60 000.

Wir applizierten diesen Indikator intravenös, suboccipital und in den Perilymphraum. Wie das obige Diagramm (Abb. 11) zeigt, ist 10 Minuten nach intravenöser Injektion erstmals eine Radioaktivität in der Perilymphe nachweisbar. Die Aktivitätskonzentration ist in der Fraktion I etwa 4 mal so hoch wie im Liquor. Die nachgeflossene Perilymphe (Fraktion II)

entspricht in ihrer Aktivitätskonzentration etwa den Werten des Liquors. Nach 1 Stunde ist die Konzentration in der Perilymphe der Fraktion I nicht so hoch wie im Liquor. Die Konzentration im Liquor steigt auch absolut an, während sie in der Perilymphe auf die Hälfte fällt. Die Fraktion II ist sogar etwas höher als die Fraktion I. Die Aktivitätskonzentration im Blut nimmt um ein Drittel ab. Nach ca. 2 Stunden sind die Werte ähnlich dem des 1-Stundenversuches, nur ist die Verschiebung zugunsten der Aktivitätskonzentration noch deutlicher. Nach längeren Zeiträumen, bis zu 48 Stunden, ist die Aktivität in der Perilymphe am höchsten, während sie im Liquor und in der Fraktion II der Perilymphe fast gleich ist.

Aus diesen Ergebnissen ist zu schliessen, daß sehr enge Beziehungen zwischen dem Blutkapillarsystem und der Perilymphe bestehen. Die Befunde zeigen, daß radioaktiv markiertes Albumin direkt aus dem Kapillarsystem in den Perilymphraum eintreten muß. Andererseits aber bestehen auch enge Beziehungen zwischen dem Liquorraum und der Perilymphe. Die Aktivitätskonzentrationen in der Fraktion II der Perilymphe weisen darauf hin, daß bei längerer Versuchsanordnung auch noch ein Nachschub aus dem Liquorraum in den Perilymphraum erfolgt.

Wird das radioaktiv markierte Humanalbumin suboccipital appliziert, so findet man nach 10 Minuten schon fast die Hälfte der Radioaktivität in der Perilymphe. (Abb. 12.)

Wie das Diagramm zeigt, kommt in der Aktivitätskonzentration der Fraktion II der Perilymphe deutlich zum Ausdruck, daß es sich bei letzterer nur um nachgeflossenen Liquor handeln kann. Dafür spricht auch, daß bei Versuchen mit längerer Dauer die Aktivität im Liquor stark abfällt, während sich die Aktivität im Perilymphraum verändert.

Aufgrund der anatomischen Verhältnisse kommt der Aquaeductus cochleae als direkter Verbindungskanal zwischen Perilymph- und Subarachnoidalraum infrage. Wir haben diesen Kanal auf der einen Seite plombiert und dann die radioaktive Substanz suboccipital appliziert. Anschließend wurde die Aktivität in der nachgelaufenen Perilymphe der operierten Seite und der Perilymphe der nicht plombierten anderen Seite gemessen. Beim Vergleich (Tab. 9) findet sich eine bis zu 100-fach höhere Aktivität in der Perilymphe des Ohres mit nicht plombiertem Aq. c. als auf der plombierten Seite. Auch diese Versuche sprechen für eine direkte Einwanderung von Liquor in den Perilymphraum über den Aq. c.

Ein Nachströmen des Liquors muß aber noch über andere Wege als über diesen Kanal erfolgen. Dies beweisen die Versuche, daß auch bei verschlossenem Aq. c. noch Aktivität in der Perilymphe nachzuweisen war. Wir nehmen an, daß dieses Einstromen von Liquor in den Perilymphraum über die perineuralen Lymphscheiden möglich ist, wofür auch die Untersuchungen von KLEY (1951) mit Eisenfarbstoffen sprechen.

Wie wir an anderer Stelle zeigen konnten (SCHREINER 1963), besteht jedoch ein Unterschied, ob man die Perilymphe im geöffneten Innenohr, also flüssig, oder bei nicht eröffneten Innenohr, also nach der Gefriermethode,

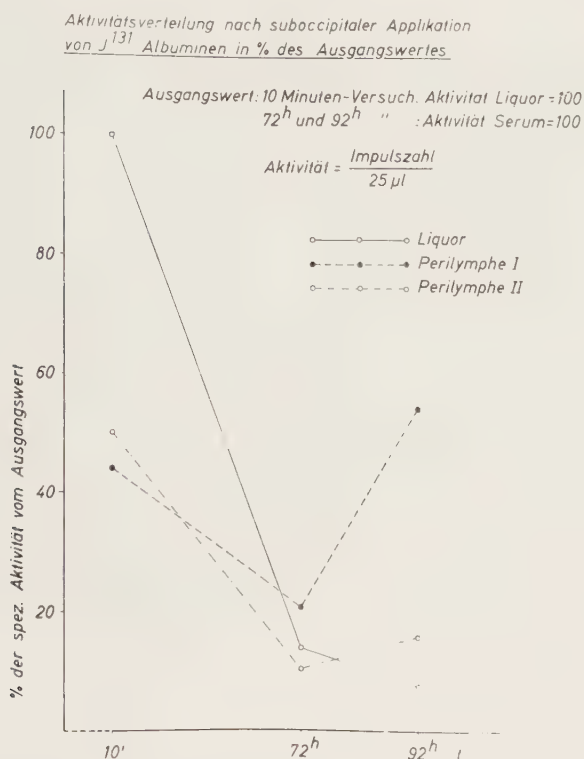


ABB. 12. Diagramm der Aktivitätskonzentrationen in Liquor und Perilymphe als Funktion der Zeit nach suboccipitaler Applikation von Jod¹³¹-markierten Albuminen. (Mittelwerte.)

gewinnt. Die Befunde geben Hinweise, daß der Aq. c. offenbar nur bei unphysiologischen Verhältnissen, d. h. bei veränderten Druckverhältnissen, durchgängig ist.

Zur Klärung der Frage, ob Endolympe als Ursprungsort für die Perilymphe infrage kommt, stellten wir Untersuchungen über die Durchgängigkeit der Reißnerschen Membran in Abhängigkeit von der Molekülgröße an. Phosphor-32, Thymin in C¹⁴-markierter Form und jodmarkiertes Humanalbumin wurde in den Perilymphraum ohne Druck eingeträufelt und die Endolympe durch Kapillarität gewonnen. Es ließ sich feststellen, daß die Reißnersche Membran für Ionen und kleine Aminosäuren durchgängig war, während das Albumin mit einer Molekülgröße von 60 000 nicht mehr in die Endolympe eindrang. Wir sind uns bewußt, daß wir durch die Eröffnung des Perilymphraumes unphysiologische Druckverhältnisse geschaffen haben. Dennoch lassen die Versuche den Schluß zu, daß die Perilymphe kein direktes Filtrationsprodukt der Endolympe sein kann. RAUCH (1960) hat Kalium- und Natriumionen in markierter Form in den Perilymphraum gebracht und ebenfalls festgestellt, daß die Reißnersche Membran für Ionen durchgängig ist. Das Kalium wandert hier sogar entgegen dem Konzentrationsgefälle, offenbar unter Mitwirkung von Zellen, in den Endolymphraum.

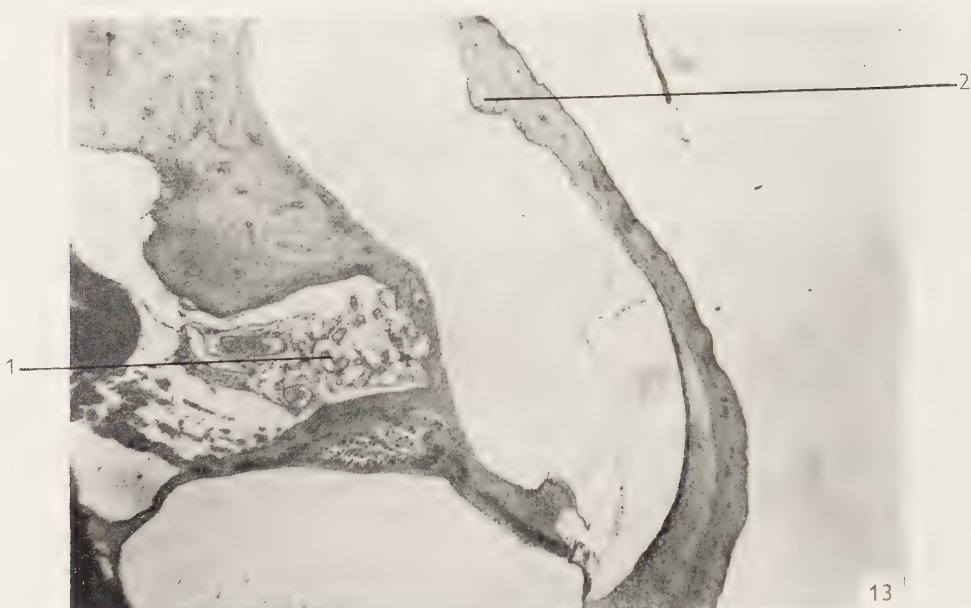


ABB. 13. Schnitt durch die basale Windung der Schnecke. Plexusartige Gefäßanordnung im Modiolus (1). Subperiostal gelegene Gefäße in der Scala vestibuli (2).

Werden Phosphor-32-Ionen oder C^{14} -markierte Aminosäuren in den Perilymphraum gebracht, so findet man nach 1 Stunde eine Aktivität im Liquorraum. Ein Stoffaustausch vom Perilymphraum in Richtung Subarachnoidalraum findet also statt, wenngleich dieser nur gering ist. Die Tatsache, daß 10 Minuten nach Applikation von radioaktiv markierten Stoffen meßbare Aktivitäten im Blut zu finden sind, läßt den Schluß zu, daß die Perilymphe im Perilymphraum selbst resorbiert werden muß.

Ein schneller Austausch für Ionen scheint auch zwischen den Perilymphräumen beider Ohren zu bestehen. RAUCH (1962) konnte unsere Befunde durch seine Versuche mit Natrium-24 bestätigen.

Es darf aufgrund der bisherigen Befunde als gesichert angesehen werden, daß die Perilymphe vorwiegend im Perilymphraum entsteht. Ob eine Filtration der Gefäße vorliegt oder ob auch eine aktive Sekretion durch zellige Elemente, etwa der tympanalen Belegschrift, hierbei eine Rolle spielt, ist nicht zu entscheiden.

Gibt man der Filtrationstheorie den Vorzug, so stellt sich die Frage, welche Gewebsabschnitte im Perilymphraum für die Perilymphbildung in Betracht kommen. GRAF und PORETTI (1950) wiesen Gefäße oberhalb des Abganges der Reißnerschen Membran im Ligamentum spirale der Scala vestibuli nach. Wir konnten diese Gefäße auch beim Kaninchen finden (Abb. 13). Sie liegen aber hier meist subperiostal.

Eine plexusartige Anordnung von Gefäßen findet sich vor allem im Modiolus der Schnecke. Der Modiolus ist beim Menschen zu den Skalen nur

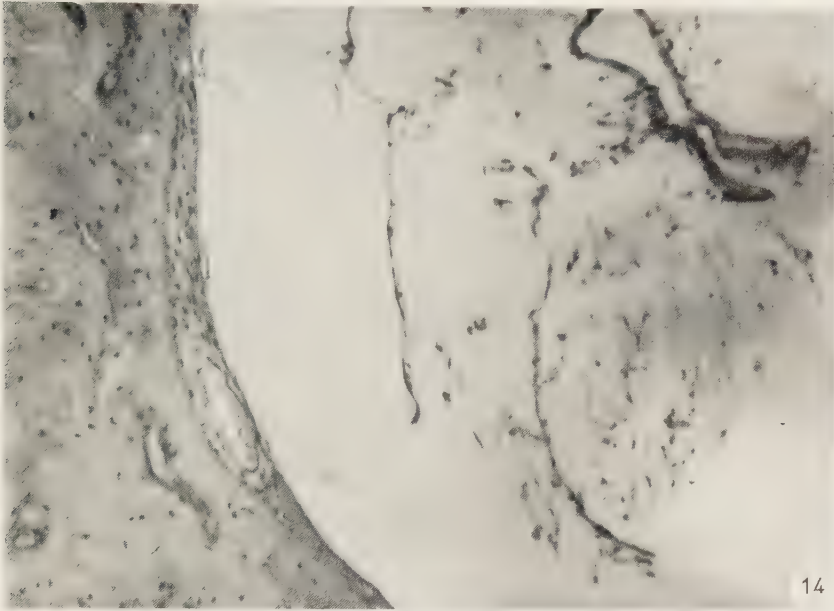


Abb. 14. Schnitt durch Bogengang. Links: Knöcherne Wand mit anliegendem Gefäßbindegewebe. Im Lumen häutiger Bogengang, der durch bindegewebige Stränge im knöchernen Rahmen aufgehängt ist.

durch Bindegewebe abgegrenzt und es erscheint deshalb naheliegend, daß besonders von diesen Gefäßen die Perilymphe direkt gebildet und in den Perilymphraum abgegeben wird.

Zahlreiche Gefäße finden sich auch in dem subperiostal gelegenen Bindegewebe der Labyrinthwandungen des Vorhofbogengangapparates (Abb. 14, 15).

WITTMACK (1936), MYGIND (1945) und KLEY (1951) haben bei ihren anatomischen Untersuchungen des Innenohres schon auf die von EICHLER (1892) und SIEBENMANN (1898) gefundene intensive Gefäßversorgung des Vestibularapparates hingewiesen. In eigenen Versuchen konnten wir beim Kaninchen diese Ergebnisse bestätigen. Man findet im Bindegewebe, welches dem Knochen des Vorhofbogengangapparates anliegt, zahlreiche, oft plexusartige Kapillaren und Präkapillaren, die teilweise frei in das Lumen des Perilymphraumes hineinragen. Diese Kapillaren haben oft eine enge Beziehung zu den benachbarten Nerven. Auffallend sind noch viele kleinste Gefäße, die an der Außenseite des Endolymphschlauches liegen. Alle hier gefundenen Gefäße können nicht nur der Ernährung dienen, sondern erfüllen wahrscheinlich noch andere Funktionen, wobei die Produktion von Perilymphe mit in Betracht gezogen werden muß.

Wir versuchten durch autoradiographische Studien diese Ansicht noch experimentell zu untermauern und darüber hinaus auch einen Beitrag zur Klärung der Frage über die Stoffwechselbeziehungen der Perilymphe zu den anderen Labyrinthflüssigkeiten zu leisten. Es gibt leider noch keine

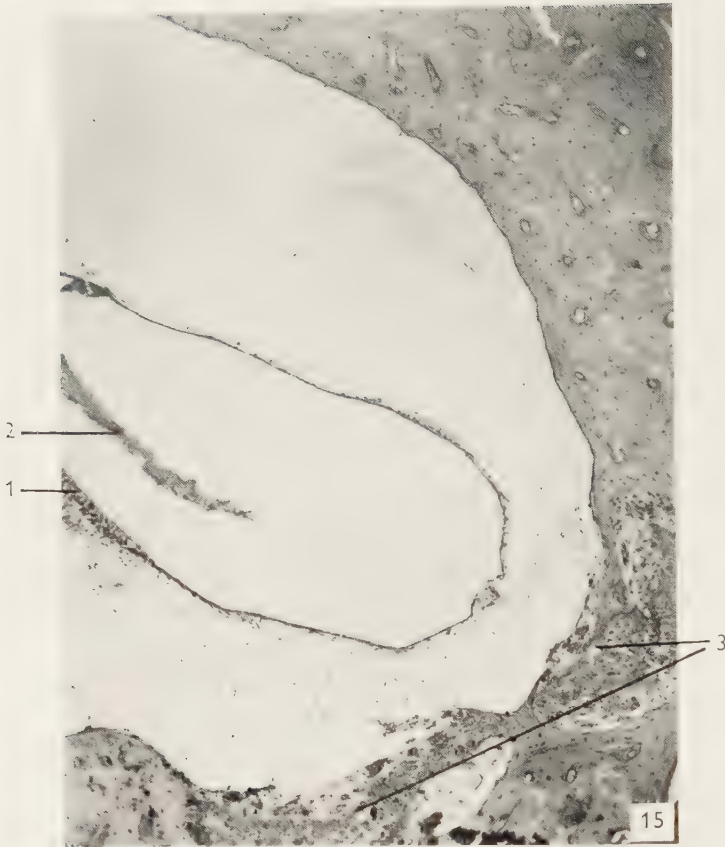


ABB. 15. Schnitt durch das Vestibulum mit Utriculus. Links außen ist die Macula utriculi (1) getroffen; im Lumen Reste der Otolithenmembran (2). Am rechten und unteren Bildrand erkennt man in der knöchernen Labyrinthkapsel das Gefäßkonvolut (3).

sichere Methode, mit welcher eine Autoradiographie wasser- oder alkohol-löslicher Stoffe durchführbar und damit eine Schwärzung der Transportwege der radioaktiv markierten Substanzen zu den Geweben möglich wäre. Bei der Fixation und Präparation der histologischen Schnitte für die Autoradiographie werden alle wasser- und alkohollöslichen, sowie mit Formalin nicht fällbaren markierten Verbindungen aus dem Schnitt herausgelöst. Als Ausweg führten wir Untersuchungen mit tritiummarkierten Aminosäuren über den Eiweißstoffwechsel der Gewebe des Innenohres im Zeitstufenversuch durch. Für die Cochlea wurden ähnliche Versuche bereits von MEYER ZUM GOTTESBERGE (1961) beim Meerschweinchen beschrieben. Am Vestibularapparat wurden solche Untersuchungen noch nicht durchgeführt.

Wir injizierten die markierte Substanz intravenös und wählten als Versuchsdauer 30 und 60 Minuten. Nach Gabe einer markierten Aminosäure wird diese in unterschiedlicher Weise in das Eiweiß der verschiedenen Gewebe eingebaut. MAURER (1959) spricht von der Umsatzrate für Amino-

säure und versteht darunter diejenige Menge an markierter Aminosäure (AS), welche in 1 g Gewebe in einer Minute eingebaut wird. Es ist hierbei zu berücksichtigen, daß ein Einbau dieser markierten Aminosäure im wesentlichen nur in den ersten Stunden nach der Verabreichung stattfindet und dann ein rascher Abfall der spezifischen Aktivität der freien AS eintritt. Der Wiederabbau des markierten Eiweißes spielt in den ersten Stunden, wie Messungen der biologischen Halbwertszeiten verschiedener Gewebe von NIKLAS, QUINKE, MAURER und NEYEN (1958) ergeben haben, noch keine Rolle. MEYER ZUM GOTTESBERGE (1961) hat festgestellt, daß schon 15 Minuten nach intravenöser Injektion markierter AS die wirkliche Umsatzrate derselben für die Gewebe der Cochlea erreicht ist. Unsere Untersuchungen haben eine Versuchsdauer von 30 und 60 Minuten, so daß die Ergebnisse die wirkliche Umsatzrate der AS für alle Gewebe des Innenohres aufzeigen, auch für diejenigen, welche durch Diffusion ernährt werden.

Bei unseren autoradiographischen Versuchen konnten wir feststellen, daß sich für verschiedene markierte AS (H^3 -Phenyl-Alanin und H^3 -Lysin) Autoradiogramme (ARG) mit gleicher Schwärzungsverteilung über den Geweben des Innenohres fanden. SCHULTZE, OEHLERT und MAURER (1959) konnten dies auch für andere Gewebe des Organismus und KOBURG (1962) für Gewebe der Cochlea am Meerschweinchen feststellen. Nach Auffassung dieser Autoren ist dies ein Hinweis dafür, daß der Aminosäure-Inkorporation eine Synthese von Eiweiß zugrunde liegt und die Schwärzungsverteilung der ARG die Größe des Eiweißstoffwechsels in den verschiedenen Geweben wiedergibt.

Autoradiographische Untersuchungen von NIKLAS und OEHLERT (1956), NOVER und SCHULTZE (1960), OEHLERT und MAURER (1958) haben ergeben, daß die verschiedenen Gewebe bei der Maus, der Ratte und dem Kaninchen sehr unterschiedliche Eiweißumsatzraten haben. Zu der Gruppe der Zellen mit dem intensivsten Eiweißstoffwechsel im Organismus gehören nach Untersuchungen von KOBURG (1962) u. a. die Zellen von Drüsen mit eiweißhaltigem Sekret, die Ganglienzellen des zentralen und peripheren Nervensystems, sowie die Zellen des Plexus choriodeus, des Ciliarkörpers und die Gefäßendothelien des RES.

Wie aus den Ergebnissen unserer Zeitstufenversuche zu ersehen ist, erkennt man sehr deutliche Unterschiede von Gewebe zu Gewebe hinsichtlich des Einbaues der aktiven Aminosäure. Bei einigen Geweben ist die Umsatzrate nach 30 und 60 Minuten Versuchsdauer der aktiven AS gleich, bei anderen steigt die AS-Umsatzrate nach 60 Minuten an. Unsere Untersuchungen bei der Cochlea des Kaninchens decken sich hierin mit den Untersuchungen von MEYER ZUM GOTTESBERGE (1960), welche dieser am Meerschweinchen durchführte.

Am Gleichgewichtsapparat ist festzustellen, daß es ebenfalls Gewebe gibt, bei denen nach 30 Minuten schon der optimale Einbau von AS erfolgt ist, während bei einer zweiten Gewebsgruppe die SK-Dichte nach 60 Minuten höher ist als nach einer kürzeren Versuchsdauer. Zur ersten Gruppe ge-

hören die Randzellen der Übergangszone und des Planum semilunatum der Crista ampullaris, sowie die Zellen des Gefäßbindegewebsnetzes in den Labyrinthwandungen, während zur zweiten Gruppe die Bogengangszellen, die Otolithenmembran und die Cupula zählen. Die Werte der AS-Umsatzrate entspricht bei der ersten Gruppe, welche NIKLAS und OEHLERT (1957), OEHLERT, SCHULTZE und MAURER (1959), NOVER und SCHULTZE (1960) beim Plexus chorioideus des Zentralnervensystems, dem Corpus ciliare der Aderhaut, sowie den Endothelien und Zellen des RES und schließlich bei den eiweißsezernierenden Zellen des Pankreas und der Nebennierenrinde fanden. Die Gruppe zwei zeigt eine SK-Dichte, wie sie von diesen Autoren bei der inneren Körnerschicht des Auges und der Basalzellschicht der Zunge festgestellt wurden. Eine übersichtliche Darstellung der SK-Dichten dieser Gewebe gab KOBURG (1962).

Bei der Beurteilung der autoradiographischen Befunde des Vorhofbogengangapparates müssen zwei Ergebnisse im Hinblick auf die Problemstellung unserer Arbeit und für die Sekretion der Labyrinthflüssigkeiten besondere Beachtung finden: 1. Der Eiweißstoffwechsel in der Übergangszone und im Planum semilunatum hat die gleiche Größenordnung wie die Stria vascularis und 2. der Eiweißstoffwechsel in den Zellen des Gefäßbindegewebes des Labyrinthwandungen ist auffallend hoch.

Es ist schwer zu entscheiden, ob die Größe des Eiweißstoffwechsels einer Zelle oder eines Gewebe eine Aussage über die Funktion, insbesondere bei der Entstehung einer Körperflüssigkeit erlaubt. Dem Plexus chorioideus des Gehirns wird vorwiegend die Produktion des Liquors, dem Ciliarkörper, die Produktion des Kammerwassers mit einer möglichen aktiven Sekretion von Eiweiß zugeschrieben. Wenn diese Annahme stimmt, dann ist ein paralleler Schluß zu ähnlichen Organen im Innenohr ebenfalls gestattet. Die Hypothese, daß die Stria vascularis die Produktionsstätte der Endolymph darstellt, wird durch unsere Untersuchungen bekräftigt. Auch MEYER ZUM GOTTESBERGE (1960) hat sich in diesem Sinne geäußert. Darüber hinaus glauben wir, daß auch die Übergangszone und das Planum semilunatum, welches die gleiche große SK-Dichte aufweist, wie die Stria vascularis, als sekretorisches Epithel für die Endolymphproduktion infrage kommt. Auch elektronenmikroskopische (BAIRATI und JURATO 1960) sowie fermenthistochemische Untersuchungen (NOMURA und BALOGH 1964) lassen darauf schließen, daß die erwähnten Gewebe eine sekretorische Funktion haben.

KOBURG und MEYER ZUM GOTTESBERGE (1960) fielen schon der hohe Eiweißgehalt im Ligamentum spirale oberhalb und unterhalb des Ansatzes der Reißnerschen Membran auf. Der Gewebsabschnitt oberhalb der Reißnerschen Membran deckt sich mit jenen Stellen, wo MYGIND (1945) und GRAF und PORETTI (1950) viele kleine Gefäße in einem weitmaschigen Bindegewebsnetz festgestellt haben.

Ein auffallend hoher Eiweißstoffwechsel war bei unseren Untersuchungen in der Cochlea noch im Tractus arteriosus et venosus des Modiolus sowie im Limbus festzustellen.

Im Bereich des Gleichgewichtsapparates ist ein ähnlich hoher Eiweißstoffwechsel im Gefäßbindegewebsnetz, welches den Labyrinthwandungen anliegt, zu erkennen.

Alle erwähnten Gewebe in der Cochlea und im Gleichgewichtsapparat, welche einen hohen Eiweißstoffwechsel haben, weisen auch eine gute Blutversorgung auf. Soweit diese Geweben nicht andere Funktionen erfüllen müssen, liegt der Schluß nahe, daß ihnen auch eine Beteiligung bei der Perilymphproduktion zukommt. Aufgrund unserer Traceruntersuchungen können wir annehmen, daß die Perilymphe primär im Perilymphraum entsteht. Wir glauben, daß die Bildungsstätte der Perilymphe in jenen Gebieten des Perilymphraumes zu suchen ist, in denen ein gefäßreiches Bindegewebsnetz vorliegt. Das Gefäßbindegewebe des Ligamentum spirale oberhalb des Abganges der Reißnerschen Membran, dann der Tractus arteriosus et venosus des Modiolus sowie das Gefäßbindegewebsnetz im Gleichgewichtsapparat bietet sich dafür an. Eine Resorption der Perilymphe in diesen Gewebsabschnitten erschiene dann ebenfalls naheliegend.

In diesem Zusammenhang ist noch die starke Schwärzung der durch Diffusion ernährten Zellen der tympanalen Belegschrift bemerkenswert. Ob diese Zellen an der Perilymphentstehung regulatorisch mitbeteiligt sind, kann zur Zeit noch nicht geklärt werden.

Bei unseren Zeitstufenversuchen konnten wir feststellen, daß die SK-Dichte über der Basilarmembran nur sehr gering war. Sie lag teilweise kaum über dem Nullwert und liegt auf jedem Fall unter der SK-Dichte der tympanalen Belegschrift. Ein Antransport von AS aus der Scala tympani über die tympanale Belegschrift und Basilarmembran in die Räume der Cortilymphe scheidet unserer Meinung nach aus.

IV. SCHLUßFOLGERUNGEN

1. Die Perilymphe wird im Perilymphraum selbst gebildet. Hierfür sprechen Traceruntersuchungen mit markierten Stoffen, wie Phosphor-32 und Jod-markierten Albuminen. Außerdem beweisen vergleichende analytische Untersuchungen hinsichtlich des Elektrolythgehaltes, der freien Aminosäuren und der Proteine, daß Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung zwischen Perilymphe und Liquor bestehen müssen. Aufgrund der histologischen und autoradiographischen Untersuchungen kommen als Produktionsstätten die Gefäße des Tractus arteriosus et venosus im Modiolus der Schnecke und kleine Gefäße in der Scale vestibuli, die oberhalb des Abganges der Reißnerschen Membran liegen, in Betracht. Im Gleichgewichtsapparat könnten plexusartige Gefäße im subperiostalen Bindegewebe der Labyrinthwandungen diese Funktion übernehmen.

2. Der Aquaeductus cochleae ist für Ionen und Stoffe bis zu einer Molekülgröße der Albumine (60 000) in Richtung Subarachnoidalraum-Perilymphraum durchgängig. Für Stoffe in der Größenordnung lichtmikroskopischer Sichtbarkeit, wie etwa Mitochondrien, besteht keine Durchlässigkeit. Es scheint möglich, daß dem Liquor im Subarachnoidalraum in Notfällen und bei unphysiologischen Bedingungen die Rolle eines Ergänzungsreservoirs zukäme.

3. Versuche bei einseitigem Verschuß des Aquaeductus cochleae zeigten, daß Liquor über andere Wege als den Aquaeductus cochleae in den Perilymphraum eindringen kann. Wahrscheinlich kommen dafür die perineuralen Lymphscheiden infrage. Ein Nachströmen von Liquor in den Perilymphraum wurde nur unter unphysiologischen Bedingungen beobachtet.

4. Ein Stoffaustausch von Ionen und Aminosäuren aus dem Perilymph in den Subarachnoidalraum ist möglich. Dieser Stoffaustausch ist aber nur niedrig.

5. Es findet ein schneller Stoffaustausch für Ionen zwischen den Perilymphräumen des linken und rechten Ohres statt.

6. Die Reißnersche Membran erweist sich als durchgängig für Ionen und Aminosäuren, nicht aber für Moleküle in der Größenordnung der Albumine.

7. Die Perilymphe wird im Perilymphraum resorbiert. Hierfür sprechen Versuche, bei denen radioaktiv markierte Substanzen in den Perilymphraum gebracht wurden und diese schon nach kurzer Zeit im peripheren Blut nachweisbar waren.

8. Autoradiographische Untersuchungen am Gleichgewichtsorgan mit tritiummarkierten Stoffen ergaben Hinweise, daß auch die Randzellen der

Crista ampullaris (Übergangszone und Planum simulunatum) als Produktionsstätten der Endolymphe anzusehen sind.

9. Eine Abstammung der Corti-Lymphe aus der Perilymphe der Scala tympani ist nicht wahrscheinlich. Bei autoradiographischen Zeitstufenversuchen zeigte sich, daß die Zellen der tympanalen Belegschaft konstant eine höhere Silberkorndichte aufwiesen als die Basilarmembran.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Zur Klärung des noch umstrittenen Problems der Herkunft der Perilymphe wurden experimentelle Untersuchungen am Kaninchen durchgeführt.

Für unsere Problemstellung hielten wir Traceruntersuchungen mit radioaktiven Stoffen, wie Phosphor³², C¹⁴-markierten Aminosäuren, Phosphor-markierten Zellgranula und Jod¹³¹-markierten Albuminen am geeignetsten. Die radioaktiven Substanzen wurden intravenös, suboccipital und in den Perilymphraum selbst appliziert. Im Zeitstufenversuch von 5 Minuten bis zu mehreren Tagen wurden stets gleiche Mengen an Perilymphe, Liquor und Blutserum entnommen und die Radioaktivität gemessen. Der Vergleich der Radioaktivitäten in den einzelnen Körperflüssigkeiten gestattete Rückschlüsse über den Antransport der aktiven Substanzen zu den jeweiligen Körperflüssigkeiten.

Ergänzt wurden diese Experimente durch autoradiographische Untersuchungen mit tritiummarkierten Aminosäuren an der Cochlea und am Gleichgewichtsorgan.

Daneben wurden noch vergleichende chemisch-analytische Untersuchungen der Elektrolyte, der freien Aminosäuren und Proteine in Perilymphe, Liquor und Blut durchgeführt.

Voraussetzung für die Durchführung dieser Versuche war, die physiologischen Verhältnisse im Labyrinth, wie z. B. die ausbalancierten Druckverhältnisse, zu wahren und die Perilymphe ohne Blutbeimengung zu gewinnen. Zur Lösung dieses Problems wurden entsprechende Operationsmethoden ausgearbeitet; es wurde auch die Präparation des Innenohres in einer modifizierten Operationstiefkühltruhe (Kryostat) angegeben.

Eine Reihe weiterer technischer Probleme, wie die Messung dieser kleinsten Mengen an Labyrinthflüssigkeiten, mußte gelöst werden.

Die erzielten Resultate wurden in 9 Schlußfolgerungen dargelegt.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß die Perilymphe im Perilymphraum selbst entstehen muß. Die Perilymphe stellt keine stagnierende Flüssigkeit dar, welche nur als Wasserkissen für den Endolymphschlauch dient, sondern unterliegt einem regen Wechsel, also einer ständigen Erneuerung und Resorption. Die Stoffwechselbeziehungen zum Liquor des Subarachnoidalraumes und zu den anderen Labyrinthflüssigkeiten sind sehr mannigfach.

Herrn Prof. Dr. W. Büngeler, dem Direktor des Pathol. Institutes der Universität München, und Herrn Prof. Dr. Dr. H. WRBA, jetziger Director des Instituts für experimentelle Medizin in Heidelberg sei an dieser Stelle dafür gedankt, daß es mir erlaubt wurde, die Einrichtungen des Institutes und insbesondere des Isotopenlabors zu benutzen. Herrn Prof. Dr. Dr. WRBA habe ich noch besonders zu danken für seine Anregungen und Unterstützungen bei den Tranceruntersuchungen.

Herrn Prof. Dr. W. MAURER, Leiter des Institutes für medizinische Isotopenforschung der Universität Köln, danke ich für die freundliche Hilfe und für wertvolle Hinweise bei der Durchführung der autoradiographischen Untersuchungen.

VI. CONCLUSIONS

1. Tracer studies with radioactive substances—Phosphor-32—and jodinated albumines indicate that the perilymph is produced within the perilymphatic space. Furthermore comparative studies concerning electrolytes, free amino acids and protein demonstrate certain differences of the chemical compounds of the perilymphatic and cerebrospinal fluid. According to histological and autoradiographical findings the vessels of tractus arteriosus and venosus in the cochlear modiolus and the small vessels of the scala vestibuli, just above the origin of the Reißner's membrane seem to be the secretory places. In the vestibular organ the plexuslike vessels in the subperiosteal connective tissue of the labyrinthal wall are able to take over this secretory function.

2. The cochlear aquaeduct is permeable for Ions and substances up to the molecular size of the albumins (60 000) in direction to the subarachnoidal-perilymphatic space. There exists no permeability for substances of the size of light-microscopical visibility like mitochondria. It seems possible that the cerebrospinal fluid of the subarachnoidal space has a certain reserve function in cases of emergency and under unphysiological conditions.

3. Studies with and unilateral obstruction of the cochlear aquaeduct showed, that the cerebrospinal fluid can use other pathways than the cochlear aquaeduct to penetrate into the perilymphatic space. Probably the perineural lymphatics can act as a pathway. A flow of cerebrospinal fluid into the perilymphatic space could only be observed under unphysiological conditions.

4. An exchange of Ions and amino acids from the perilymphatic to the subarachnoidal space is possible. This exchange however is quantitatively very low.

5. There is a rapid exchange of Ions between the perilymphatic spaces of the left and right ear.

6. The Reißner's membrane proved to be permeable for Ions and amino acids, but not for molecules of albumine-size.

7. After incorporation of radioactive substances into the perilymphatic space these substances could be traced in the peripheral blood within a short time. This indicates that the perilymph is resorbed in the perilymphatic space.

8. Autoradiographical studies of the vestibular organs with tritium-labelled substances indicated, that also the marginal cells of the crista ampullaris (transition-zone and planum semilunatum) have to be considered as secretory place of the endolymphatic fluid.

9. An origin of the lymphatic fluid of the organ of Corti from the perilymphatic fluid of the scala tympani is not very likely. Autoradiographic studies at different times showed constantly a higher incorporation of silver granula in the epithelial coverage of the scala tympani than in the basilar membrane.

VII. SUMMARY

The problem of the origin of the perilymphatic fluid has not yet been solved. Concerning this question experimental studies with rabbits were performed.

Tracer studies with radioactive substances—like Phosphor³², C¹⁴-labelled amino acids, phosphor-labelled cellular granula and Iodine¹³¹-labelled albumines seemed to be most suitable. The radioactive substances were administered intravenously and suboccipitally and also directly incorporated into the perilymphatic space. At different times—5 minutes up to several days—the same quantities of perilymphatic and cerebrospinal fluid and blood were taken and the degree of radioactivity measured. The comparison of the radioactivity in the different samples permitted conclusions concerning the transport of the applied active substances to the different body-fluids.

In addition to these experiments autoradiographical studies of the cochlea and the vestibular organ with tritium-labelled amino acids were performed. Furthermore analytical chemical studies of the electrolytes, the free amino acids and the proteins in the blood and the perilymphatic and cerebrospinal fluid were carried out.

For the performance of these experimental studies it was necessary to preserve the physiological qualities of the labyrinth, for instance the balanced pressure conditions and to withdraw perilymphatic fluid without blood. Proper surgical procedures were developed to solve this problem; the preparation of the inner ear in a modified operation kryostat was reported.

Several other technical problems like the work up of these minimal quantities of labyrinthal fluid had to be solved.

Nine conclusions demonstrate the results. Our studies indicate that the perilymphatic fluid originates from the perilymphatic space itself. The perilymphatic fluid shows no starris, it does exclusively serve as a water pillow for the endolymphatic hose. Much more, it shows a rapid exchange, i.e. continuous renewal and absorption. The metabolic relation to the cerebrospinal fluid of the subarachnoidal space and the other fluids of the labyrinth are of very different character.

VIII. LITERATUR

- ALDRED, P.; C. S. HALLPIKE u. A. LEDOUX: Observations on the osmotic Pressure of the Endolympe. *J. Physiol.* (London) 98, 446 (1940).
- ALTMANN, F.; J. G. WALTNER: The circulation of the labyrinth fluids. Experimental investigations in rabbits. *Ann. Otol.* (St. Louis) 56, 684 (1947).
- ALTMANN, F.; J. G. WALTNER: Further investigations on the Physiology of labyrinthine fluids. *Ann. Otol.* (St. Louis) 58, 657 (1950). *Laryngoskop* (St. Louis) 60, 727 (1950).
- ANTONINI, E.; V. CASORATI u. S. CRIFO: Aminoacides de la Perilymphe. *Rev. Laryng* (Bordeaux) 1-20, 59 (1956).
- ANTONINI, E.; V. CASORATI u. S. CRIFO: The proteins of the perilymph *Ann. otol.* (St. Louis) 66, 129 (1957).
- ARNVIG, J.: Histological findings in a case of Ménière's disease, with remarks on the pathological anatomical basis on this desion. *Acta oto-laryng.* (Stockh.) 35, 453 (1947).
- BAIRATI, A.; S. LURATO: The ultrastructural organisation of „plana semilunata“. *Exp. Cell. Res.* 20, 77 (1960).
- BALOGH, K. u. Y. NOMURA: Metabolic pathways in the vestibular labyrinth as revealed by histochemical technics. *Acta oto-laryng.* 57, 484 (1964).
- BÉKÉSY, G. v.: DC potentials and energy balance of the cochlea partitions. *J. acoust. Soc. Americ.* 23, 576 (1951).
- BÉKÉSY, G. v.: Description of some mechanical properties of the organ of Corti. *J. acoust. Soc. Americ.* 25, 770 (1953).
- BÉKÉSY, G. v.: Shearing microphonics produced by vibrations near the inner and outer hair cells. *J. acoust. Soc. Americ.* 25, 786 (1953).
- BÉLANGER, L. F.: Autoradiographic Detection of S³⁵ in Membranes of the inner Ear of the Rat. *Science* 118, 520 (1953).
- BOYD, G. A.: The physical principles and techniques of autoradiographs. *J. Biol. Phot. Assoc.* 16, 65 (1947).
- CHEVANCE, L. G.; A. GALLY u. J. JEANMAIRE: Immuno-electrophoretic study of the human Perilymph. *Acta. oto-laryng.* (Stockh.) 52, 41 (1960).
- CITRON, L.; D. EXLEY u. C. S. HALLPIKE: Formation, circulation and chemical properties of the labyrinthine fluids. *Brit. Med. J.* 12, 101-104 (1956).
- DOHLMANN, G. F. u. C. OMEROD: The Secretion and Absorption of Endolymph. *Acta oto-laryng.* 51, 435 (1959).
- EICHLER, O.: Anatomische Untersuchungen über die Wege des Blutstromes im menschlichen Ohrlabyrinth. *Hirzel*, Leipzig 1892.
- EICHLER, O.: Die Wege des Blutstromes durch den Vorhof und die Bogengänge des Menschen. *Hirzel*, Leipzig 1894.
- ENGSTRÖM, H.: The Corilymphe, the third lymph of the inner Ear. *Acta morph. neer. scand.* 3, 195 (1960).
- FIEANDT, H. v.; A. SAXÉN: Beiträge zur Histologie der Stria vascularis und der Prominentia spiralis bei Säugern. *Z. Anat. Entw. Gesch.* 106, 534 (1937).
- FIEANDT, H. v.; A. SAXÉN: Struktur und Funktion der Plana semilunata und des sogenannten Randepithels im statischen Labyrinth des Menschen und des Hundes. *Z. Anat. Entw. Gesch.* 106, 406 (1937).
- FÜHR, J. u. O. HINZ: Eiweißbestimmungen mit dem Folinreagens. *Klin. Wschr.* 33, 87 (1955).

- GISSELSSON, L.: The passage of fluorescein sodium to the labyrinthine fluids. *Acta oto-laryng.* (Stockh.) 37, 268 (1949).
- GRAF, K. u. G. PORETTI: Die Entstehung der Perilymphe. *Pract. oto-rhino-laryng.* (Basel) 12, 351 (1950).
- GRASSMANN, W. u. K. HANNING: Präparative Elektrophorese in: Houten Weyl, Methoden der organ. Chemie 4. Aufl. Bd. I/1, S. 685 Stuttgart, Thieme 1958.
- GUILD, R.: The circulation of the endolymph. *Americ. J. Anat.* 39, 57 (1927).
- HOMMERICH, K. W.: Experimentelle Untersuchungen zum Stauungsohr. *Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehl.-Heilk.* 176, 684 (1960).
- HOMMERICH, K. W.: Intracranieller Druck und Cochlearfunktion. Hühig-Verlag, Heidelberg 1963.
- JAKO, G.; F. L. WEILLE; P. E. PALMER; J. W. IRWIN: An experimental study of the dynamic circulation of the labyrinthine fluids. *Americ. otol. (St. Louis)* 68, 733 (1959).
- JAMPOLSKY, L. N.: Über den morphologischen Zusammenhang des Subarachnoidalraumes mit dem Labyrinth. *M Schr. Ohrenheilk.* 69, 23 (1925).
- KARBOWSKI, B.: Vergleichende anatomische Studien über den Aquaeductus cochleae und seine Beziehungen zum Subarachnoidalraum des Gehirns. *M Schr. Ohren-Heilk.* 67, 687 (1930).
- KARLEFORS, J.: Über den Aquaeductus cochleae beim Menschen. *Z. Anat. Entw. Gesch.* 67, 1 (1923).
- KLEY, E.: Zur Herkunft der Perilymphe. *Z. Laryng. Rhinol.* 30, 486 (1951).
- KLUYSKENS, P. u. M. RABAEY: Modification of the protein pattern of the perilymph in experimental conditions and in pattern affected with Menière's disease. *Acta oto-laryng.* (Stockh.) 52, 493 (1960).
- KOBRAK, F.: Labyrinthliquor. *Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehl.-Heilk.* 156, 30 (1949).
- KOBURG, E.: Autoradiographische Untersuchungen zum Eiweißstoffwechsel der Gewebe der Cochleae. *Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehl.-Heilk.* 178, 150 (1961).
- KOBURG, E. u. A. PLESTER: Zur Größe des Eiweißstoffwechsels der Gewebe der Cochlea. *Acta oto-laryng.* (Stockh.) 54, 319 (1962).
- KUNKEL, H. G. u. S. M. WARD: The immunological determination of human albumin in biological fluids. *J. Biol. Chem.* 182, 597 (1950).
- LEMPERT, J. P., E. MELTZER, E. G. WEVER, M. LAWRENCE u. H. R. RAMBO: Structur und function of cochlear aquaeduct. *Arch. of Otol.* 55, 134 (1952).
- LUNDQVIST, P. G., R. KIMURA u. J. WERSÄLL: Ultrastructural organization of the epithelial lining in the endolymphatic duct and sac in the guinea pig. *Acta oto-laryng.* 57, 65, 1964.
- MAURER, W.: Grundlagen und Technik des Arbeitens mit radioaktiven Isotopen. Im Handbuch der Neurochirurgie. Hrsg. v. H. Olivecrona und W. Tönnis, Bd. I 1. S. 547-568. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1959 a.
- MAURER, W.: Über die Größe des Umsatzes von Organ und Plasmaeiweiß. In: 10. Colloquium d. Ges. f. Physiol. Chemie. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1959 b.
- MEURMANN, Y.: Zur Anatomie des Aquaeductus cochleae nebst einigen Bemerkungen über dessen Physiologie. *Acta Soc. Med. „Duodecim“.* Ser. B., 13, 1 (1931).
- MEYER ZUM GOTTESBERGE, A.: Autoradiographische Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel in der Schnecke und dem Nucleus N. Cochlearis. *Acta. oto-laryng.* (Stockh.), Suppl. 163, 46 (1960).
- MEYER ZUM GOTTESBERGE, A. u. D. PLESTER: Autoradiographische Untersuchungen zum Stofftransport in der Cochlea des Meerschweinchens. *Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehl.-Heilk.* 178, 145 (1961).
- MIES, J. H.: Einengung von Liquor cerebrospinalis als Vorbereitung zur Papierelektrophorese. *Klin. Wschr.* 31, 159 (1953).
- MÜNDNICH, K.: Die Chirurgie der Fenestra vestibuli. *Z. Laryng. Rhinol.* 38, 131 (1959).

- MÜNDNICH, K.: Diskussionsbemerkung. Arch. Ohr., Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 176, 689 (1960).
- MYGIND, S. H.: Experimental histological Studies on the labyrinth. Acta oto-laryng. (Stockh.) 33, 75 (1945).
- MYGIND, S. H.: Beiträge zur Physiologie der Flüssigkeitssysteme des Labyrinthes. Arch. Ohr., Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 160, 472 (1952).
- NIKLAS, A. u. W. OEHLERT: Autoradiographische Untersuchungen der Größe des Eiweißstoffwechsels verschiedener Organe, Gewebe und Zellarten. Beitr. path. Anatomie 116, 92 (1956).
- NIKLAS, A.; E. QUINCKE; W. MAURER u. H. NEYEN: Messung der Neubildungsraten und biologischen Halbwertszeiten des Eiweißes einzelner Organe und Zellgruppen bei der Ratte. Biochem. Zschr. 330, 1 (1958).
- NOVER, A. u. B. SCHULTZE: Autoradiographische Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel in den Geweben des Auges. Graefes Arch. 161, 554 (1960).
- OEHLERT, W.; B. SCHULTZE u. W. MAURER: Autoradiographische Untersuchungen der Größe des Eiweißstoffwechsels der verschiedenen Zellen des Zentralnervensystems. Beitr. path. Anatomie 119, 343 (1958).
- OHMER, M.: Über einige Beziehungen krankhafter Veränderungen der Labyrinthhöhlräume und Liquorkanäle zueinander. Hals-, Nasen- u. Ohrenarzt 30, 793 (1939).
- PELC, S. R.: Autoradiographie technique. Nature 160, 749 (1947).
- PERLMANN, H. B.; R. S. KIMURA u. J. R. LINDSAY: Relation of the internal ear spaces to the meninges. Arch. oto-laryng. 29, 12 (1939).
- PLESTER, D.: Autoradiographische Untersuchungen des Eiweißstoffwechsels in der Schnecke. Arch. Ohr., Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 176, 667 (1960).
- PORTMANN, G.; M. PORTMANN; H. C. M. BARJON: L'utilisation des isotopes radioactifs dans la physiologie des liquides labyrinthiques. Acta oto-laryng. (Stockh.) 44, 532 (1954).
- PRESSMANN, D. u. H. N. EISEN: J. of Immun. 64, 273 (1950).
- QUIX, F. H. u. A. A. J. VAN EGMOND: Über das Eindringen von Eisen-Cocainsalz-Lösungen aus dem Mittelohr in das Labyrinth von Meerschweinchen. Z. Hals-Nasen-Ohren-Heilk. 32, 26 (1933).
- RAUCH, S.: Beitrag zur Biochemie der Hörzellen. Z. Laryng. Rhinol. 39, 16 (1960).
- RAUCH, S.: Biochemische Studien zum Hörorgan. A. Elektrolytprobleme. Z. Laryng. Rhinol. 39, 655 (1960).
- RAUCH, S.: Die Rolle der Elektrolyte beim Hörorgan. Arch. Ohr., Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 178, 126 (1961).
- RAUCH, S.: Biochemische Studien zum Hörorgan. B. Zur Funktion der Reißner'schen Membran. Z. Laryng. Rhinol. 41, 56 (1962).
- RAUCH, S.: Biochemische Studien zum Hörorgan. C. Die resorptive Funktion der Stria vascularis. Pract. oto-rhino-laryng. (Basel) 25, 270 (1961).
- RAUCH, S.; A. KÖSTLIN: Aspects chimiques de l'endolymphe et de la périlymphe. Pract. oto-rhino-laryng. (Basel) 29, 287 (1958).
- RAUCH, S.; A. KÖSTLIN; E. A. SCHNIEDER; K. SCHINDLER: Arguments for the permeability of Reißner's membrane. Laryngoscope 73, 135 (1963).
- RAUCH, S.: Biochemie des Hörorgans. Thieme-Verlag 1964.
- RÜEDI, L.: Über die Funktion der Stria vascularis. Pract. oto-rhino-laryng. (Basel) 13, 341 (1951).
- SAXÉN, A.: Histological studies of endolymph secretion and resorption in the inner ear. Acta oto-laryng. (Stockh.) 40, 23 (1951).
- SCHREINER, L.: Traceruntersuchungen mit Phosphor³² zum Stoffwechsel der Perilymphe. Vortrag vor der Münchener Oto-laryngologischen Gesellschaft Dezember 1960.
- SCHREINER, L.: Untersuchungen zum Stoffwechsel und Herkunft von Perilymphe. Arch. Ohr., Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 178, 2 (1961), 140.
- SCHREINER, L.: Zur Methodik der Endolymphgewinnung. Die Naturwissenschaften 49, 8 (1962).
- SCHREINER, L.: Autoradiographische Untersuchungen zur Größe des Eiweißstoffwechsels

- des peripheren Gleichgewichtsapparates beim Meerschweinchen. *Klin. Wschr.* 40, 19 (1962).
- SCHREINER, L.: Experimentelle Untersuchungen mit radioaktiven Stoffen zur Herkunft der Perilymphe. Vortrag vor der Gesellschaft f. Morphologie und Physiologie, München 22.11.1962.
- SCHREINER, L.: Untersuchungen mit markierten Stoffen zur Durchgängigkeit des Aquaeductus cochleae. *Arch. Ohr.- Nas.- u. Kehlk.-Heilk.* 182 (1963) (Kongreßband).
- SCHULTZE, B.; W. OEHLERT u. W. MAURER: Autoradiographische Untersuchungen zum Mechanismus der Eiweißneubildung in Ganglienzellen. *Beitr. path. Anat.* 120, 58 (1959).
- SCHULTZE, B.; W. OEHLERT u. W. MAURER: Vergleichende autoradiographische Untersuchungen mit H-3, C-14 und S-35 markierten Aminosäuren zur Größe des Eiweißstoffwechsels einzelner Gewebe und Zellarten bei Maus, Ratte und Kaninchen. *Beitr. path. Anat.* 122, 406 (1960).
- SHAMBAUGH, G. E.: Über die Herkunft der in der tieferen Schicht der Stria vascularis sich findenden Zellen. *Z. Ohrenheilk.* 53, 312 (1907).
- SHAMBAUGH, G. E.: Über Bau und Funktion des Epithels im Sulcus spiralis externus. *Z. Ohrenheilk.* 58, 280 (1909).
- SIEBENMANN, F.: Die Blutgefäße im Labyrinth des menschlichen Ohres. Bergmann, Wiesbaden 1894.
- SIEBENMANN, F.: Mittelohr und Labyrinth. In: Handbuch der Anatomie des Menschen. Bd. V, Hrsg. von K. v. Bardeleben, Fischer, Jena 1897.
- SMITH, C. A.; O. H. LOWRY; M. L. WU: Elektrolytes of labyrinthine fluids. *Laryngoskope (St. Louis)* 64, 141 (1954).
- SVANE-KNUDSEN, W.: Resorption of the cerebrospinal fluid in guinea pig. *Acta oto-laryng.* (Stockh.) 49, 237 (1958).
- UNGERECHT, K.: Über das Liquordrucklabyrinth. *Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk.* 176, 675 (1960).
- VENTURA-GREGORINI, F.: Sulla farmacologica del labirinto. *Arch. ital. Sci. famacol.* 1, 1 (1935).
- WALTNER, J. G.: Barrier membrane of the cochlear aquaeduct. Histologic studies on the patency of the cochlear aquaeduct. *Arch. oto-laryng.* 47, 656 (1948).
- WEBER-LIEL, F.: Experimenteller Nachweis einer freien Communication der endolymphatischen und perilymphatischen Räume des menschlichen Ohrlabyrinthes mit extralabyrinthischen, intracraniellen Räumen. *Virchows Arch. path. Anat.* 77, 207 (1879).
- WEED, L. H.: Studies of cerebrospinal fluid. III. The pathway of escape from the subarachnoid spaces with particular reference to the arachnoid villi. *J. Med. Res.* 31, 51 (1914).
- WERNER, CL., F.: Das Labyrinth. G. Thieme, Leipzig 1940.
- WITTMACK, K.: Über die pathologisch-anatomischen und pathologisch-physiologischen Grundlagen der nichteitrigen Erkrankungsprozesse des inneren Ohres und des Hörnerven. *Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk.* 99, 82 (1916).
- WITTMACK, K.: Betrachtungen über die Erkrankungsprozesse des inneren Ohres auf der Grundlage der Tonuslehre. *Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk.* 141, 25 (1936).
- WITTMACK, K.: Die Ortho- und Pathologie des Labyrinthes. G. Thieme, Stuttgart 1956.
- WRBA, H. u. L. SCHREINER: Zum Stoffaustausch der Perilymphe des Innenohres. *Die Naturwissenschaften* 48, 9 (1961).
- WRBA, H.; L. SCHREINER u. W. THEIMER: Der Gehalt an freien Aminosäuren in der Perilymphe des Kaninchenohres. *Klin. Wschr.* 40, 16, 857 (1962).

© ACTA OTO-LARYNGOLOGICA • KARLAVÄGEN 41, STOCKHOLM Ö

★

PRINTED IN SWEDEN BY

Almqvist & Wiksells Boktryckeri Aktiebolag

UPPSALA 1966